



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**PROANTOCIANIDINAS. EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO
VERSUS STRESS OXIDATIVO**

Trabalho submetido por
Vanessa Antunes Simões Dias José
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2014



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROANTOCIANIDINAS. EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO VERSUS STRESS OXIDATIVO

Trabalho submetido por
Vanessa Antunes Simões Dias José
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof^a. Doutora Margarida Maria de Mesquita Cabral de Moncada

Setembro de 2014

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer à professora Margarida Moncada, pela ajuda e dedicação durante a realização deste trabalho.

Agradeço à minha família, por todas as preocupações demonstradas, por acreditarem em mim, por me apoiarem e por me incentivarem a nunca desistir, em especial à minha mãe, que me acompanhou sempre, pelo apoio de quando estava mais em baixo, a sua dedicação, as noites mal dormidas, e, também ao meu pai por todos os sacrifícios que fez por mim para poder estudar e pelos conselhos...

Agradeço ao meu irmão por tudo, pela paciência que teve que ter em certas alturas, pela amizade e pelo companheirismo.

Agradeço a todos os professores do Instituto com os quais durante estes anos adquiri bastantes conhecimentos.

Agradeço a todo o pessoal da Farmácia Azevedo, por todo o apoio que me deram, por todos os conhecimentos que me transmitiram e, não menos importante, pelo carinho com que me receberam e amizade. Em especial, agradeço ao Dr. Manuel Azevedo e à Dra. Rita Vieira, por toda a confiança que depositaram em mim, por toda a dedicação e tempo que despenderam e também pela transparência transmitida.

Agradeço a todo o pessoal do Hospital Beatriz Ângelo, por me terem recebido muito bem e, também, por todo o apoio que me deram, por todos os conhecimentos que me transmitiram e por toda a dedicação.

Agradeço aos meus amigos, especialmente à Sofia Costa Gomes, à Tânia Rodrigues e à Joana Almeida, que para além de colegas são amigas, a sua presença durante a realização deste trabalho foi fundamental, estiveram sempre disponíveis para me ajudar, e, não menos importante foi o espírito de amizade e de solidariedade demonstrado ao longo destes anos que nos permitiu chegar juntas a este grande momento.

Resumo

Os radicais livres são compostos com eletrões desemparelhados podendo, desta forma, interagir com outras moléculas ou estruturas como o *DNA*, ou seja, uma elevada produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) pode levar ao stress oxidativo, e consequentemente à inflamação.

A inflamação é a primeira reação do sistema imunitário à presença de corpos estranhos e à irritação química, tendo como objetivo a proteção das células do organismo do Homem.

A inflamação tem sido reconhecida como um fator de risco preponderante para diversas doenças como o cancro, doenças neurodegenerativas, doenças reumáticas, doenças inflamatórias crónicas, DCV e obesidade.

Os compostos fenólicos que têm na sua constituição anéis aromáticos e grupos hidroxilo podem reduzir os radicais livres prevenindo o aparecimento de doenças que derivam do seu excesso em circulação.

Dentro do grupo dos polifenóis, a classe mais importante são os flavonóides, e dentro desta, a subclasse – proantocianidinas ou procianidinas. As proantocianidinas ou taninos condensados são misturas de oligómeros e polímeros de flavonóides compostos por unidades de flavan-3-ol.

Assim, o consumo destes antioxidantes pode prevenir o aparecimento de diversas doenças crónicas, nomeadamente aquelas que se encontram ligadas à inflamação, como é o caso dos cancros e de doenças cardiovasculares.

Em suma, fazer uma alimentação equilibrada rica em frutas e legumes, permite obter os compostos necessários para a proteção contra estas doenças.

Palavras-chave: *stress* oxidativo; inflamação; flavonóides; proantocianidinas.

Abstract

The free radicals are compounds with unpaired electrons thus being able to interact with other molecules or structures as the DNA, that is, a high production of reactive oxygen species (ROS) can lead to oxidative stress and thus to inflammation.

Inflammation is the first response of the immune system to the presence of foreign bodies and chemical irritation, with the objective of protecting the cells of the human body.

Inflammation has been recognized as a major risk factor for many diseases such as cancer, neurodegenerative diseases, rheumatic diseases, chronic inflammatory diseases, cardiovascular disease (CVD) and obesity.

Being that the phenolic compounds have in its constitution aromatic rings and hydroxyl groups, these can reduce the free radicals thus preventing the onset of diseases that derive from the excess of free radicals in circulation.

Within the group of polyphenols are the most important class flavonoids, and within that, the subclass - proanthocyanidins or procyanidins. The proanthocyanidins or condensed tannins are mixtures of oligomers and polymers comprised of flavonoid units of flavan-3-ol.

Thus, the consumption of these antioxidants can prevent various chronic diseases, especially those that are linked to inflammation, such as cancers and cardiovascular diseases.

In summary, make a balanced diet rich in fruits and vegetables, get the permits required to protect against these diseases compounds.

Keywords: oxidative stress; inflammation; flavonoids; proanthocyanidins.

Índice

Agradecimentos	3
Resumo	4
Abstract.....	5
Índice de Figuras	8
Índice de Tabelas	9
Siglas e Abreviaturas	10
Objetivos e Metodologia da Dissertação	12
Capítulo 1: Introdução	13
1.1. Radicais Livres e Stress Oxidativo	13
1.1.1. Formação dos Radicais Livres	16
1.1.2. Alvos dos radicais livres	17
1.2. Antioxidantes	18
Capítulo 2: Desenvolvimento	22
2.1. Compostos fenólicos	22
2.2. Flavonóides como antioxidantes	25
2.2.1. Origem e Distribuição	25
2.2.2. Estrutura e Classificação Química.....	26
2.2.3. Mecanismo de ação dos flavonóides	28
2.2.4. Atividades Biológicas	29
2.2.5. Outros Exemplos	30
2.2.5.1. Antocianinas	30
2.2.5.2. Catequinas	31
2.3. Proantocianidinas.....	32
2.4. Aplicação e Importância das Proantocianidinas	35
2.4.1. Cacau/Chocolate	35

2.4.2.	<i>Canela</i>	36
2.4.3.	<i>Chá</i>	37
2.4.4.	<i>Cranberries</i>	38
2.4.5.	<i>Maçã</i>	39
2.4.6.	<i>Vinho</i>	40
2.5.	<i>Inflamação</i>	42
2.5.1.	<i>Inflamação Aguda e Inflamação Crónica</i>	43
2.5.2.	<i>Metabolitos do Ácido Araquidónico ou Eicosanoides</i>	44
2.5.3.	<i>Mediadores inflamatórios derivados das proteínas plasmáticas: Sistema Complemento</i>	46
2.5.4.	<i>Neutrófilos/Macrófagos/Monócitos</i>	46
2.5.5.	<i>Basófilos e Mastócitos</i>	47
2.5.6.	<i>Linfócitos T e B</i>	48
2.5.7.	<i>Citocinas</i>	48
2.6.	<i>Inflamação e Obesidade</i>	49
2.7.	<i>Inflamação e Doenças Cardiovasculares</i>	53
2.7.1.	<i>Influência dos flavonóides na saúde vascular</i>	55
2.8.	<i>Cancro</i>	57
2.8.1.	<i>Etiologia, Inflamação e Cancro</i>	57
2.8.1.1.	<i>p53</i>	58
2.8.1.2.	<i>TNF- α</i>	58
2.8.1.3.	<i>Cox-2</i>	59
Capítulo 3:	<i>Conclusão</i>	61
Bibliografia	63

Índice de Figuras

Figura 1: Representação sistemática dos vários fatores de transcrição que são modulados pelo ROS. Adaptado de Reuter et al., 2010	13
Figura 2: Rede de defesa antioxidante. Adaptado de Niki, 2010 e Gonçalo	19
Figura 3: Efeitos benéficos dos polifenóis na saúde. Adaptado de Pandey & Rizvi, 2009	22
Figura 4: Estrutura genérica de um flavonóide. Adaptado de Apak et al., 2007	25
Figura 5: Classe de flavonóides. Adaptado de Sandhar & et al., 2011	26
Figura 6: Capacidade de captação de radicais livres. Adaptado de Sandhar & et al., 2011	27
Figura 7: Grupos estruturais responsáveis pela atividade antioxidante. Adaptado de Sandhar & et al., 2011	28
Figura 8: Estrutura básica das proantocianidinas. Adaptado de Fu & et al., 2014	31
Figura 9: Estruturas químicas de procianidinas B2 e A2. Adaptado de Mateos-Martín & et al., 2012	32
Figura 10: Metabolitos do ácido araquidónico na inflamação farmacológica anti-inflamatória por compostos fitoquímicos. Adaptado de Robbins & Cotran, 2008.....	44
Figura 11: Interações adiposo – sistema imunológico durante a obesidade	50

Índice de Tabelas

Tabela 1: Sistema de Defesa antioxidante. Adaptado de Bouayed & Bohn, 2010	18
Tabela 2: Classificação, estrutura e algumas fontes alimentares dos flavonóides	29

Siglas e Abreviaturas

AP -1: Ativador da proteína 1

CAT: Catalase

COX: Ciclooxygenase

COX-1 e COX-2: Ciclooxygenase 1 e 2, respetivamente

CTB-1: Cinnamtannin B-1

DCV: Doença Cardiovascular

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EGCG: (-) -epigallocatequina galato

FCR: recetores específicos dos macrófagos

GLUT-4: Transportador de glucose do tipo 4

GSH: Glutathione

HIF-1 α : Fator que regula a expressão de vários genes relacionados com o cancro

ICAM-1: Molécula de adesão intercelular 1

IL-1b: Interleucina-1b

IL-3: Interleucina-3

IL-4: Interleucina-4

IL-6: Interleucina-6

IL-7: Interleucina-7

IL-10: Interleucina-10

IL-12: Interleucina-12

IL-13: Interleucina-13

IP-3: Inositol trifosfato

LC: Leucotrienos

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

MCP-1: Proteína quimiotática de monócitos- 1

NADPH: Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

NF-kB: Factor de nuclear kappa B

Nrf-2: Fator de transcrição dos eritrócitos

NO: Óxido nítrico

NOS: Óxido nítrico sintetase

OH•: Radical hidroxilo

PC-1: Procianidina C-1

PCR: Proteína C reativa

PG: Prostaglandinas

PLAT: Ativador do plasminogénio 1

RNS: Espécies reativas de nitrogénio

ROS: Espécies reativas de oxigénio

STAT: Transdutor de sinal e proteína ativadora

SOD: Superóxido dismutase

SP1: Fator de transcrição – proteína específica

TNF- α : Fator de necrose tumoral

VCAM-1: Molécula de adesão celular vascular 1

Objetivos e Metodologia da Dissertação

O principal objetivo desta dissertação é o estudo da componente anti-inflamatória das proantocianidinas.

Primeiramente é feita uma abordagem ao *stress* oxidativo, um dos principais fatores de risco da inflamação. É, também feito um enquadramento, relativamente aos antioxidantes de um modo geral.

O capítulo que se segue diz respeito ao desenvolvimento, onde é falado dos compostos fenólicos, nos flavonóides como antioxidantes, posteriormente é falado nas moléculas em estudo, proantocianidinas, onde são mencionadas as suas propriedades, bem como a aplicação e benefícios da sua ingestão presente em diversos alimentos.

Por último, é então explicada a inflamação, abordando algumas patologias a ela associadas, como a obesidade, as doenças cardiovasculares e, ainda, a sua ligação ao cancro.

Capítulo 1: Introdução

1.1. Radicais Livres e Stress Oxidativo

Os radicais livres são definidos como moléculas ou fragmentos de moléculas que contêm um ou mais elétrons desemparelhados em orbitais atômicas ou moleculares. Este elétron (s) confere, frequentemente, um grau elevado de reatividade ao radical livre (Graham J. Burton & Jauniaux, 2012).

O *stress* oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e de metabolitos reativos, desta forma são designados por oxidantes ou espécies reativas de oxigénio (ROS) e a sua eliminação por mecanismos protetores, referidos como antioxidantes (Reuter et al., 2010).

O termo “espécies reativas de oxigénio” diz respeito aos seus intermediários, isto é, aos radicais livres e não livres (Graham J. Burton & Jauniaux, 2012).

Os radicais livres de oxigénio, onde se incluem as espécies reativas de oxigénio, bem como, as espécies reativas de nitrogénio (RNS) são designadas por produtos do metabolismo normal da célula. Sendo que são consideradas a classe mais importante de radicais livres (Valko & et al., 2007).

ROS e RNS são também conhecidos por terem um duplo papel, isto é, podem funcionar tanto como espécies benéficas como nocivas para os sistemas biológicos (Valko & et al., 2007).

Os efeitos benéficos ou fisiológicos dos ROS ocorrem, por norma, em concentrações baixas e envolvem funções de defesa contra agentes infecciosos, e, ainda está, implicado na indução da resposta mitogénica, segundos mensageiros celulares e transdução de sinal. Por conseguinte, os efeitos nocivos, como o *stress* oxidativo e *stress* nitrosativo, provocam danos a nível biológico, especialmente quando se verifica um aumento na produção de ROS / RNS por deficiência ou ausência de sistemas antioxidantes (Valko & et al., 2007).

Contudo, este excesso pode danificar diversas estruturas, tais como: lípidos, proteínas celulares, membranas e *DNA*, inibindo, desta forma, o seu normal funcionamento. Todavia, não só os que já foram mencionados, mas os alvos da ROS, também possuem um papel importante na alteração de cascatas de transdução de sinal, bem como, na indução de alterações nos fatores de transcrição, como por exemplo: fator nuclear kappa B (NF- κ B) que é responsável pela resposta inflamatória; no ativador da proteína 1 (AP-1), que é um fator importante no crescimento e diferenciação da célula; no STAT3 que é um transdutor de sinal e ativador da via de transcrição 3; e, no HIF-1 α que está relacionado com a expressão de genes, figura 1 (Valko & et al., 2007).

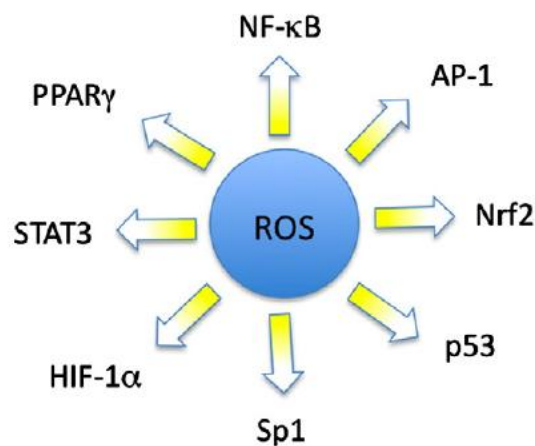


Figura 1 – Representação sistemática dos vários fatores de transcrição que são modulados pela ROS.
Adaptado de Reuter et al., 2010.

Numa breve descrição da figura 1, o fator nuclear Kappa B apresenta uma vasta família de fatores de transcrição, dos quais se destacam o p50, p52, p65, entre outros. Este é um dos fatores principais, sendo constituído por proteínas diretamente relacionadas, que por norma existem na forma de dímeros e que se ligam a uma sequência comum de *DNA* dentro dos promotores ou potenciadores dos genes-alvo, denominado por local kB, de modo a promover a transcrição de genes alvo através do recrutamento de co-ativadores e de co-repressores (Sharma & Vinayak, 2011b).

O ativador de proteína 1 (AP-1) é um fator que é frequentemente associado à ativação do NF- κ B, e como já referido está relacionado com a proliferação e transformação de células tumorais (Valko & et al., 2007).

Uma diferente via de transdução de sinal foi descoberta através de um estudo de ativação transcripcional em resposta ao interferão. A ativação de diversas tirosina quinases leva a uma fosforilação, seguida de dimerização e localização nuclear dos transdutores de sinal e proteínas ativadoras da transcrição (STAT), que, por conseguinte, origina uma ligação a elementos específicos do *DNA* e transcrição direta. O grupo STAT é vasto, mas o fator que mais se destaca é o STAT 3, uma vez que está implicado em mielomas múltiplos, linfomas e vários tumores sólidos (Amin & et al., 2009). Por último, temos o HIF-1 α que é o responsável por regular a expressão de vários genes relacionados com o cancro (Valko & et al., 2006a).

Em circunstâncias consideradas normais, os oxidantes derivados de fagócitos possuem uma ação protetora, uma vez que, matam as bactérias e os parasitas invasores (Valko & et al., 2007).

Assim, torna-se pertinente conhecer os diversos tipos de ROS, embora existam uns mais prejudiciais para as células do que outros, no entanto todos provocam danos nas estruturas celulares acima mencionadas. Ao derivarem do oxigénio molecular dão origem ao anião superóxido, peróxido de hidrogénio, radicais de hidroxilo e ao oxigénio (Aggarwal, 2006).

Estas espécies reativas podem causar danos nos tecidos, contribuindo para o desenvolvimento ou mesmo progressão de inúmeras doenças dentro das quais salientam-se as cardiovasculares, diabetes, artrite, doença pulmonar, bem como, doenças autoimunes, cancro e doença de Alzheimer (Aggarwal, 2006), podendo estar também associado a processos de envelhecimento (Valko & et al., 2007).

Como podemos perceber, os mecanismos de defesa do nosso organismo são efetuados de três formas: por compostos antioxidantes, pelas barreiras físicas e por processos de prevenção e reparação das células (Khansari & et al., 2009).

1.1.1. Formação dos Radicais Livres

Os radicais livres podem ser formados através de processos endógenos e/ou por processos exógenos (M. Valko & et al., 2006 b) (Khansari & et al., 2009). Contudo, a destruição celular também permite o aumento da formação de radicais livres (Khansari & et al., 2009).

Quanto ao processo exógeno, pode-se destacar como fontes, as radiações UV, gases poluentes (M. Valko & et al., 2006 b) e radiações ionizantes (Khansari & et al., 2009).

Relativamente aos processos endógenos, as fontes usadas são a cadeia respiratória da mitocôndria, o metabolismo do citocromo P450, peroxissomas e, ainda, a ativação de células envolvidas nos processos inflamatórios (Khansari & et al., 2009).

Ainda que existam diversas fontes de onde possam ser oriundos os radicais livres, é a mitocôndria, a sua principal fonte (Graham J. Burton & Jauniaux, 2012).

Portanto, na mitocôndria durante o processo de redução do Oxigénio a água, vários intermediários são produzidos, incluindo o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de Hidrogénio (H_2O_2) e o radical hidroxilo [OH] (Khansari & et al., 2009).

Segundo Graham J. Burton & Jauniaux, 2012, a transferência de eletrões ao longo da cadeia respiratória não é totalmente eficiente dado que muitos dos eletrões são perdidos para o oxigénio molecular, resultando na formação do anião superóxido ($O_2^{\bullet-}$) (Graham J. Burton & Jauniaux, 2012).

Outra forma das espécies reativas de oxigénio e de nitrogénio serem geradas é através do sistema de enzimas, como a nicotina adenina dinucleótido fosfato oxidase (NADPH) e pelo óxido nítrico sintetase (NOS) respetivamente, ou através da transição de metais, ou mediadores do *stress* oxidativo e inflamação (Chuang & McIntosh, 2011).

1.1.2. Alvos dos radicais livres

Os radicais livres podem reagir com os ácidos gordos da membrana celular e com a forma dos peróxidos lipídicos. A acumulação de peróxidos lipídicos pode levar à produção de agentes carcinogénicos, como o malondialdeído. Os danos na membrana celular podem decorrer desta via, uma vez que esta pode afetar de forma permanente a elasticidade e a fluidez da mesma, dando origem à rutura das células. Estas alterações são significativas, essencialmente em células com uma vida longa, como é o caso dos neurónios (Khansari & et al., 2009).

As proteínas são, igualmente, considerados principais alvos de ataque por parte dos radicais livres. Os radicais que são produzidos em excesso podem reagir com os aminoácidos da proteína para oxidar e ligá-los entre si. As reações dos radicais -proteína podem prejudicar a função das proteínas celulares e extracelulares mais importantes, como enzimas e proteínas do tecido conjuntivo (Khansari & et al., 2009).

O *DNA* também é suscetível aos ataques de radicais livres. Uma interação do radical de oxigénio com o *DNA* pode quebrar as suas ligações ou eliminar uma base. Este dano pode-se tornar num acontecimento letal para o organismo. Embora o sistema de reparação celular possa corrigir a maior parte destes, o radical que induziu a lesão no *DNA* tende a acumular-se com a idade, podendo ser uma das causas etiológicas para os processos de envelhecimento (Khansari & et al., 2009).

1.2. Antioxidantes

A definição de antioxidante descrita no dicionário é bastante simples resultando, assim numa “substância que se opõe à oxidação ou que inibe reações promovidas pelo oxigénio ou peróxidos”, muitas destas substâncias são usadas como conservantes em diferentes produtos, tais como: gorduras, óleos, produtos alimentares e sabonetes, por forma a retardar o desenvolvimento do ranço (Valko & et al., 2007). Relativamente à definição da bioquímica e da medicina, “os antioxidantes são enzimas ou substâncias orgânicas que são capazes de neutralizar os efeitos nocivos da oxidação em tecidos animais” (Huang & et al., 2005).

Assim, os antioxidantes são definidos como moléculas orgânicas que promovem a saúde, protegendo as células do corpo contra danos causados pelos radicais livres e espécies reativas de oxigénio que, de outra forma exerceriam efeitos metabólicos nocivos (Goufo & Trindade, 2014).

Desta forma, a exposição aos radicais livres permitiu o desenvolvimento de determinados mecanismos de defesa, como: mecanismos de prevenção, de reparação, as defesas físicas e as defesas antioxidantes (Valko & et al., 2007).

A presença das espécies reativas de oxigénio em doses elevadas pode tornar-se prejudicial levando ao desenvolvimento de ações fisiopatológicas, enquanto doses mais baixas podem ser benéficas para ações fisiológicas normais (Bouayed & Bohn, 2010).

Os verdadeiros antioxidantes são aqueles que conseguem quebrar as ligações dos radicais livres (Valko & et al., 2007). Em estudos mais recentes realizados *in vivo* e *in vitro* descobriu-se que existem micronutrientes antioxidantes, cujas principais fontes são os legumes e a fruta, capazes de reduzirem o risco de cancro (Stoner & et al., 2008).

Os antioxidantes podem ter origem endógena (enzimáticos ou não enzimáticos) ou exógena, como se pode observar na tabela 1 (Valko & et al., 2006a) (Bouayed & Bohn, 2010).

Relativamente aos antioxidantes exógenos, estes desempenham um papel chave no equilíbrio entre a oxidação e a anti-oxidação em sistemas vivos, como exemplo, temos a

vitamina C, a vitamina E, flavonóides e fenóis, tendo a dieta como sua fonte principal (Dai & Mumper, 2010).

Quanto aos antioxidantes endógenos temos: a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutathione peroxidase (GSH), entre outros (Bouayed & Bohn, 2010).

Tabela 1 – Sistema de Defesa Antioxidante. Adaptado de Bouayed & Bohn, 2010.

Sistema de Defesa Antioxidante	
Antioxidantes Endógenos	Antioxidantes Exógenos
<u>Antioxidantes Enzimáticos</u> <ul style="list-style-type: none"> • Superóxido Dismutase (SOD); • Catalase (CAT); Glutathione peroxidase (GPx): enzimas que envolvem a destoxificação dos peróxidos (CAT contra H_2O_2 e GPx contra H_2O_2 e ROOH) • Glutathione redutase: enzima envolvida na regeneração da glutathione • Tioredoxina redutase: enzima envolvida na proteção contra a oxidação proteica 	<u>Principais Antioxidantes da Dieta provenientes das frutas, vegetais e sementes</u> <ul style="list-style-type: none"> • Vitaminas: vitamina C, vitamina E • Carotenoides: B-caroteno, licopenos • Ácidos polifenólicos: ácidos clorogénicos, ácidos gálicos, ácidos cafeicos, etc., • Flavonóis: quercetina*, kaempferol* • Flavonóis: proantocianidinas e catequinas • Antocianidinas: cianidina* e pelargonidinas* • Isoflavonas: genisteína* • Flavononas: naringenina*, hesperetina* • Flavonas: luteolina* e apigenina*
<u>Antioxidantes não-enzimáticos (principais agentes redutores intracelulares)</u> Glutathione (GSH), ácido úrico; ácido lipóico; NADPH, albumina e bilirrubina	

* e seus glucósidos.

Os antioxidantes podem ser classificados sob o ponto de vista da sua função como: preventivos, eliminadores “*scavenging*”, reparadores ou *de novo* e adaptativos, criando uma espécie de rede contra os ataques provenientes dos radicais livres, como se pode verificar na figura 2 (Niki, 2010).

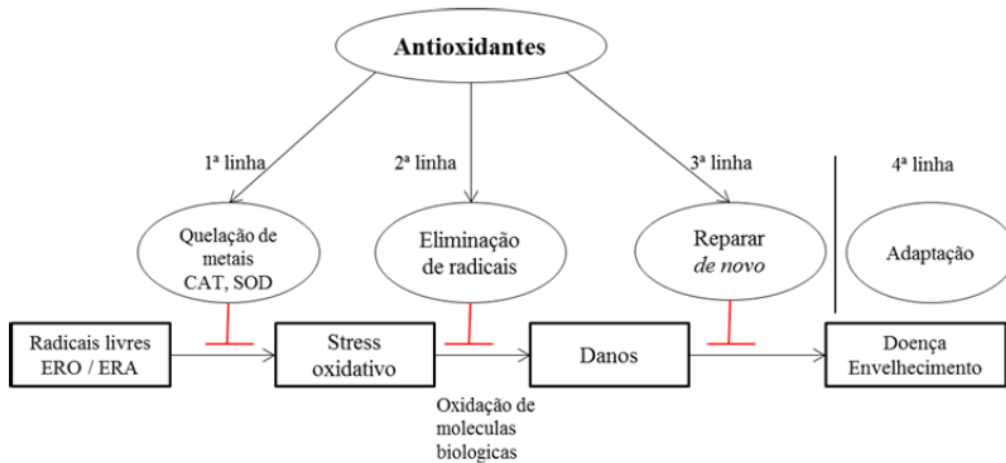


Figura 2 - Rede de defesa antioxidante, conforme proposto por Niki e colegas. Adaptado de Niki, 2010.

Os antioxidantes, cuja sua função é a de prevenção, funcionam como primeira linha na defesa, suprimindo a formação de ROS e de RNS, por exemplo, reduzindo o peróxido de hidrogénio a água, ou quelando iões metálicos como o ferro e cobre (Niki, 2010).

Na segunda linha de defesa, encontram-se os antioxidantes eliminadores “*scavenging*” que permitem a rápida remoção das espécies reativas antes que estes ataquem compostos biológicos, como as membranas celulares (Niki, 2010).

As enzimas funcionam como terceira linha na defesa contra os ataques provenientes dos radicais *in vivo*, atuando como antioxidantes reparadores ou *de novo*, pois permitem a reparação e a reconstrução das membranas que se encontram danificadas ou que perderam a sua função (Niki, 2010).

No fim desta rede, e não menos importante, temos os antioxidantes adaptativos que atuam na produção e no envio de antioxidantes para outros locais na proporção correta, de forma a desempenharem uma determinada função (Niki, 2010) (Niki & et al., 1995).

Contudo, podem ainda ser classificados tendo em conta o seu modo de ação (Miguel, 2010). Assim sendo, classificam-se como primários, secundários e co-antioxidantes (Miguel, 2010).

Os antioxidantes primários são capazes de doarem um átomo de hidrogénio rapidamente a um radical lipídico dando origem a um novo radical que é mais estável (Miguel, 2010).

Enquanto, que os antioxidantes classificados como secundários podem reagir com os antioxidantes “primários” ou, estão implicados na redução dos níveis de oxigénio sem perigo de gerarem outros radicais livres, e, desta forma, permitem a redução de reações de iniciação de radicais (Miguel, 2010).

Esta ação dos antioxidantes engloba a quelação de metais, a neutralização de peróxidos, a absorção de radiação ultravioleta e a remoção do oxigénio (Miguel, 2010) (Angelo & et al., 2007).

Portanto, a maioria dos antioxidantes após a doação de eletrões a espécies reativas são capazes de interagir com outros antioxidantes, voltando ao seu estado reduzido. Esta capacidade permite-lhes desempenharem a sua função diversas vezes, tornando-se antioxidantes reutilizáveis (Rahman, 2007).

Capítulo 2: Desenvolvimento

2.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxilo (Pires, 2010) (Dai & Mumper, 2010). Para além de se apresentarem sob a forma natural, também se podem ligar entre si, ou com outros compostos (S. E. Soares, 2002).

Existindo uma vasta quantidade de fenóis, os que são importantes devido à sua origem natural como, também, possuírem propriedades antioxidantes são os ácidos fenólicos, os flavonóides, os taninos e os tocoferóis (Angelo & et al., 2007).

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com elevado grau de polimerização. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou, ligados a açúcares ou proteínas (S. E. Soares, 2002).

Os compostos evidentes nos organismos vivos dividem-se em dois grupos: metabolitos primários e metabolitos secundários.

Quanto aos primeiros são produzidos através dos processos metabólicos primários, como a respiração e a fotossíntese. Estes incluem pequenas moléculas, comuns a todos os organismos, tais como: açúcares, aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, entre outros (Pires, 2010).

Relativamente aos metabolitos secundários, estes são produzidos pelos derivados do metabolismo primário (Pires, 2010), encontrando-se maioritariamente nas plantas sendo que a sua distribuição é restrita, ou seja, são específicos de determinadas plantas (Angelo & et al., 2007). Por outro lado, têm a particularidade de poderem ser formados em condições de *stress* e de serem essenciais quer no crescimento quer na reprodução das plantas (Angelo & et al., 2007).

Este grupo está intimamente relacionado com as propriedades organoléticas, especialmente com a cor e o sabor dos frutos e dos vegetais (Tapas & et al., 2008), na defesa de raios ultravioleta e em infeções provocadas por parasitas ou patógenos (Dai

& Mumper, 2010), mas, também com a proteção das enzimas e vitaminas (Kumar & Pandey, 2013).

Assim, as suas principais fontes são os citrinos, nomeadamente, o limão, a laranja, a tangerina, estando também presentes na maçã, ameixa, uva, cereja, entre outras. A maior quantidade é encontrada na polpa da fruta, em vez do suco como seria expectável (Angelo & et al., 2007). Por outro lado, temos alguns vegetais que também são excelentes fontes, a título de exemplo temos o alho e a cebola (Angelo & et al., 2007), e, ainda cereais, vinho e chá (Dai & Mumper, 2010).

Podendo encontrar, por exemplo, as catequinas no chá verde, a quercetina na maçã, as antocianinas nas bagas, demonstrando que são antioxidantes que exibem uma excelente atividade de captação de radicais livres (Stoner & et al., 2008).

Como já foi referido, os polifenóis têm sido estudados com o intuito de detetar as suas propriedades benéficas para a saúde do ser humano, sendo cada vez mais evidente a sua relação com a atividade anticancerígena e com a inibição de diversos cancros, como: o do cólon, da mama, do pulmão, entre outros (Angelo & et al., 2007).

A figura 3 demonstra algumas das utilizações que os polifenóis podem exercer na proteção da saúde.

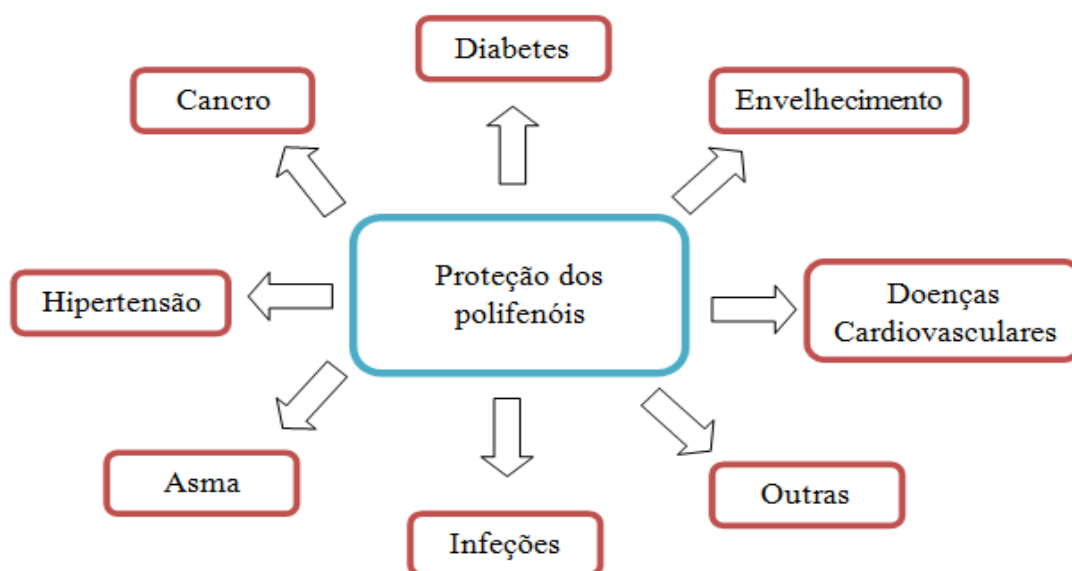


Figura 3 – Efeitos benéficos dos polifenóis na saúde. Adaptado de Pandey & Rizvi, 2009.

Dentro do grupo dos fenóis, o que mais se destaca com este potencial são os flavonóides (Angelo & et al., 2007).

2.2. Flavonóides como antioxidantes

Como os flavonóides pertencem a um grupo de compostos fenólicos amplamente distribuídos na natureza, podemos encontrá-los na dieta quer humana quer animal (Kumar & Pandey, 2013), por sua vez, tornaram-se muito importantes, já que assumem um papel fundamental no *stress* oxidativo (Sandhar & et al., 2011).

Os antioxidantes são capazes de inibirem a oxidação de vários substratos desde moléculas simples a polímeros complexos, através de dois mecanismos: o primeiro envolve uma inibição da formação de radicais livres que possibilitam a etapa de iniciação; o segundo diz respeito à eliminação de radicais com um papel importante na etapa de propagação através da doação de átomos de hidrogénio (S. E. Soares, 2002). Os produtos intermediários resultantes da ação destes antioxidantes são estáveis devido ao anel aromático presente nestas substâncias (S. E. Soares, 2002).

2.2.1. Origem e Distribuição

A pesquisa dos flavonóides iniciou-se em 1936 quando um cientista húngaro, Albert Szent-Gyorgi, descobriu uma certa sinergia entre a vitamina C pura e co-fatores (ainda não identificados) de casca de limão, que mais tarde designou por “vitamina P”, uma vez que, julgou tratar-se de uma substância vitamínica, mas com o avançar do tempo ficou esclarecido que se tratava de um flavonóide (Tapas & et al., 2008).

A sua origem prende-se com a estrutura aromática dos aminoácidos como a fenilalanina, a tirosina e o malonato (Moretoni, 2008).

Como anteriormente referido, podem ser encontrados nas frutas e vegetais, no chá, cerveja e vinho, sendo, por isso, considerados como parte integrante da dieta humana (Kandaswami et al., 2005) (Dai & Mumper, 2010).

O seu consumo varia muito com a alimentação praticada nos mais diversos países, pelo que a dieta Mediterrânica é considerada muito rica nestes compostos pela presença do

azeite, citrinos, uvas e verduras (Kandaswami et al., 2005). Por outro lado, a composição do alimento também é importante, dado que pode afetar a biodisponibilidade dos flavonóides (Moretoni, 2008).

Vários flavonóides não só inibem o crescimento das células tumorais, como também potenciam a diferenciação celular (Kandaswami et al., 2005), pelo que a sua ingestão está presente na redução dos mais vastos cancros (Gibellini et al., 2011).

Torna-se difícil contabilizar a quantidade de flavonóides que é ingerida por dia, devido à falta de padronização dos métodos analíticos, assim como, na determinação e avaliação da biodisponibilidade dos mesmos (Gibellini et al., 2011). Contudo, estima-se que a ingestão destes compostos varie entre 1 a 2 g/ por dia (Sandhar & et al., 2011).

2.2.2. Estrutura e Classificação Química

Os flavonóides são caracterizados pela presença de dois anéis aromáticos (Katz, Doughty, & Ali, 2011) benzénicos ligados por uma cadeia com três átomos de carbono (podendo originar ou não um terceiro anel) (Harbone, 1991).

Atualmente, a estrutura química do flavonóide apresenta-se composta por dois anéis aromáticos, A e B, unidos por três átomos de carbono, dando origem a um anel heterocíclico denominado por anel C (Babbar & et al., 2013), cuja orientação rege-se pela estrutura C₆-C₃-C₆ (Dai & Mumper, 2010).

A figura 4 representa uma estrutura genérica de um flavonóide. As alterações efetuadas nos seus anéis resultam nas diferentes classes de flavonóides (Pandey & Rizvi, 2009).

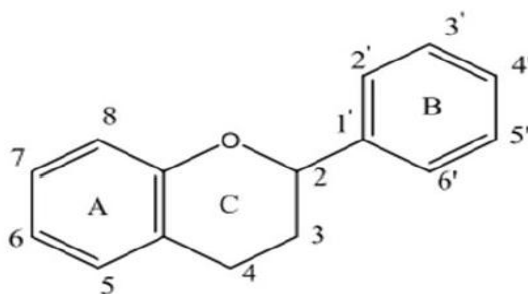


Figura 4 – Estrutura genérica de um flavonóide. Adaptado de Apak et al., 2007.

A figura 5 ilustra as diversas classes de flavonóides, sendo que as mais relevantes são as antocianidinas, flavonas, isoflavonóides e as proantocianidinas (Ivey, Lewis, Prince, & Hodgson, 2013) (Gibellini et al., 2011).

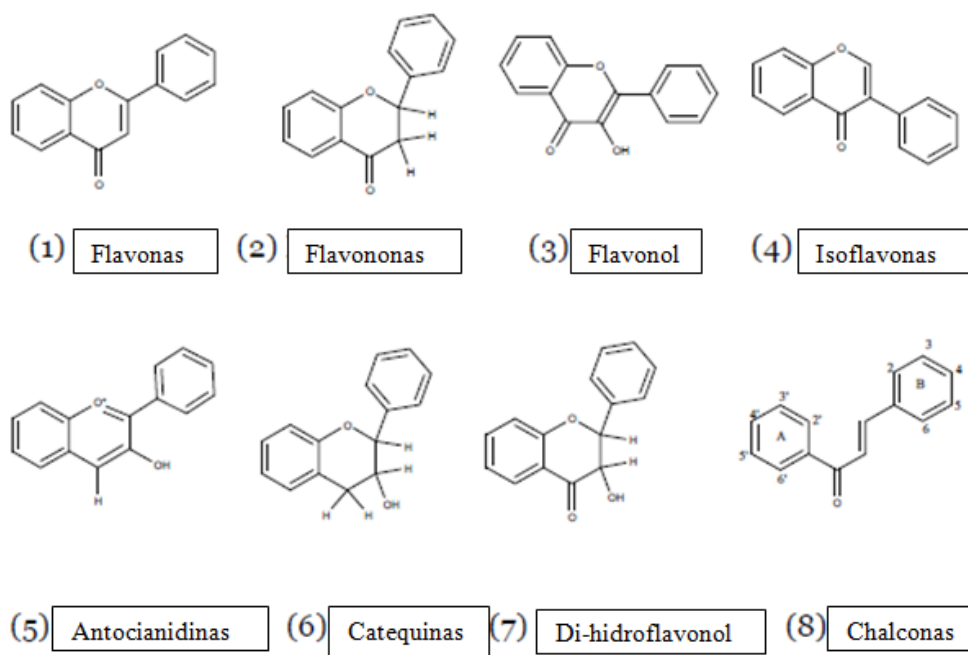


Figura 5 – Classes de flavonóides. Adaptado de Sandhar & et al., 2011.

Recentemente foi provado que os flavonóides provenientes da dieta podem ser absorvidos em quantidades que possam desempenhar um efeito antioxidante (Moretoni, 2008). Embora a atividade antioxidante seja a que está mais associada a este tipo de compostos, os flavonóides possuem outras propriedades que permitem a prevenção de doenças crónico-degenerativas, destacando-se a sua capacidade anti-inflamatória, anti-alérgica e imunomoduladora (Olajuyigbe & Afolayan, 2011).

2.2.3. Mecanismo de ação dos flavonóides

A sua forma de ação irá depender apenas das suas concentrações no organismo, tanto dos antioxidantes como dos radicais livres, (Starr & et al., 2003).

A capacidade antioxidante dos flavonóides contra os radicais livres, é-lhe atribuída devido à doação de hidrogénio (Sandhar & et al., 2011).

De fato, os polifenóis possuem esta capacidade de captar os radicais livres devido à elevada reatividade dos substituintes hidroxilo, abaixo demonstrado na reação:

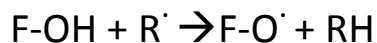


Figura 6 – Capacidade de captar radicais livres. Adaptado de Sandhar & et al., 2011.

A existência de estudos de cinética relativos a reações de formação do radical aroxil e decomposição permitiu ter uma ideia sobre a forma como é que os flavonóides atuam.

A capacidade antioxidante de um flavonóide está ligada aos seus três grupos estruturais como indicado na figura 7 (Sandhar & et al., 2011), isto é, as características da estrutura dos flavonóides para uma captação dos radicais de forma eficaz está relacionada com o grupo catecol (O-dihidroxilo) no anel, que é responsável por conferir a capacidade captadora, assim como, a presença de um grupo de pirogalol (trihidroxilo) no anel B, de um catecol que produz atividade ainda maior (por exemplo, a miricetina). A ligação dupla entre C₂-C₃ no anel C tende a aumentar a atividade de captação, dado que confere estabilidade ao radical fenoxi produzido; 4-oxo (Sandhar & et al., 2011) (Tapas & et al., 2008).

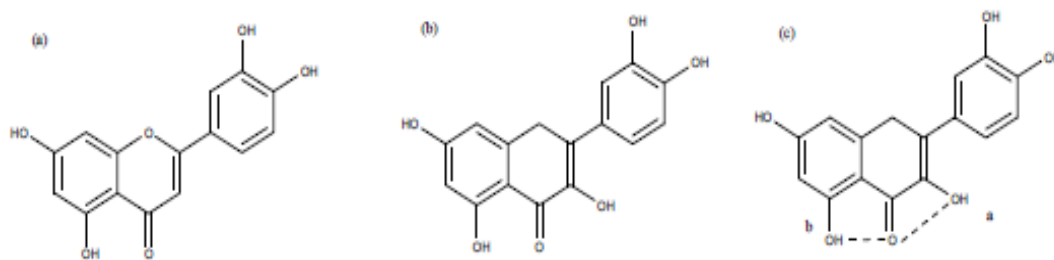


Figura 7 – Grupos estruturais responsáveis pela atividade antioxidante. Adaptado de Sandhar & et al., 2011.

2.2.4. Atividades Biológicas

Os flavonóides possuem inúmeras atividades biológicas e, como tal, têm sido largamente estudados por cientistas (Tapas & et al., 2008). O seu interesse está relacionado com os seus potenciais benéficos para a saúde e a redução do risco de cancro (Kumar & Pandey, 2013).

Atualmente, vários estudos têm demonstrado que estes compostos são cruciais no tratamento de infeções bacterianas e virais, e em doenças neurodegenerativas, como o cancro ou doenças cardiovasculares (Kumar & Pandey, 2013).

Como principais atividades biológicas, podemos destacar: antioxidante (Moretoni, 2008), cardioprotetora (Hooper et al., 2008) e anticancerígena (Sandhar & et al., 2011). Assim como, apresentam atividade anti-inflamatória (Olajuyigbe & Afolayan, 2011), antimicrobiana (Georgiev & et al., 2014), antiviral (Tapas & et al., 2008), antialérgica (Sandhar & et al., 2011), hepatoprotetora (Tapas & et al., 2008), antidiabética (Kandaswami et al., 2005) e apresenta efeitos no tratamento de doenças neurodegenerativas (Kumar & Pandey, 2013).

Tabela 2 – Classificação, estrutura e algumas fontes alimentares dos flavonóides. Adaptado de Kumar & Pandey, 2013 e de Hooper et al., 2008.

Classe	Flavonóides	Fontes na Dieta
Flavan-3-óis	(+) – Catequina (-) – Epicatequina Epigallocatequina galato	Chá, cacau ou chocolate preto, maçã, uvas
Flavonas	Apigenina Luteolina e Tangeretina	Pele da fruta e do tomate, vinho tinto, malagueta, tangerinas
Flavonóis	Quercetina Kaempforol	Cebola, vinho tinto, azeite, toranjas, maçã
Flavononas	Naringenina e Hesperetina	Citrinos (toranjas, limões e laranjas)
Isoflavonas	Genisteína	Legumes e produtos de soja
Antocianidinas	Apigenina, Cianidina	Morango, cereja, amoras

2.2.5. Outros Exemplos

2.2.5.1. Antocianinas

Do grupo que constitui os flavonóides, as antocianidinas são as que têm ganho alguma relevância, sendo, por isso, as mais estudadas (Wang & Stoner, 2008).

As antocianinas são constituídas por diversas moléculas das quais salientam-se a cianidina, peonidina, petunidina e a malvidina (Thomasset & et al., 2009).

São consideradas os intermediários das proantocianidinas (Goufo & Trindade, 2014).

Este grupo ocorre naturalmente na fruta e nos vegetais como glicosídeos, possuindo galactose, glicose, ramnose, arabinose (Wang & Stoner, 2008) conjugado com o grupo hidroxilo do C₃ no anel C da antocianidina (Thomasset & et al., 2009) (Stoner & et al., 2008), e consistem em pigmentos de flavonóides solúveis em água (Zu & et al., 2010).

A sua estrutura química é demasiado instável, uma vez que o anel C encontra-se totalmente aromatizado, e desta forma estão carregadas positivamente (González & et al., 2011). Como consequência desta instabilidade a estrutura torna-se facilmente modificada por diversos fatores. Estes incluem a temperatura, pH, presença de luz, oxigénio (Thomasset & et al., 2009), e, ainda a concentração, iões metálicos, a presença de co-pigmentos, entre outros (Sari & et al., 2012). A solubilidade em água é um fator importante sendo esta a propriedade que as torna tão relevantes na natureza (Haovanalikit & et al., 2004).

As antocianidinas conferem a maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho que surgem nas frutas e vegetais, desde as maçãs, uvas, couve roxa até ao milho, tornando-os mais apelativos (Wang & Stoner, 2008).

Estudos epidemiológicos indicam que o seu consumo diminui o risco cardiovascular, de diabetes, de artrite e de cancro, sobretudo devido à sua atividade anti-inflamatória e antioxidante (Wang & Stoner, 2008).

É de salientar que as antocianinas e as antocianidinas, quando se encontram na forma de misturas, também demonstram as suas propriedades quimiopreventivas em cancros da mama, do pulmão, da pele, entre outros (Thomasset & et al., 2009).

Contudo, a instabilidade das antocianinas durante o processo de extração e armazenamento tem diminuído a eficácia terapêutica (Zu & et al., 2010).

2.2.5.2. Catequinas

As catequinas do chá em especial a (-) - epigallocatequina galato (EGCG), reagem com os radicais superóxido, hidroxilo e peróxido (Gibellini et al., 2011), verificando-se uma relação inversa entre o consumo deste tipo de flavonóides e a mortalidade por doença isquémica (Rahman, 2007). Desta forma, o consumo de chá preto tem demonstrado ser eficaz na redução dos marcadores do *stress* oxidativo e inflamação, em doentes com deficiência na artéria coronária (Rahman, 2007).

2.3. Proantocianidinas

As proantocianidinas ou taninos condensados são misturas de oligómeros e polímeros de flavonóides (Liu et al., 2013) compostos por unidades de flavan-3-ol (Mateos-Martín & et al., 2012).

As proantocianidinas são o componente mais importante de várias frutas e folhas de plantas (Liu et al., 2013).

As procianidinas são a estrutura típica das proantocianidinas (Chen et al., 2014). Sendo estas constituídas por catequinas e epicatequinas (Chen et al., 2014), quando possui na sua constituição epigallocatequina são designadas por prodelfinidinas (Mateos-Martín & et al., 2012), se na sua constituição constar epi-afzelechim estamos perante uma propelargonidina (Fu & et al., 2014). Pois algumas destas unidades podem ser esterificadas com outras moléculas, como a glucose ou o ácido gálico (Fu & et al., 2014).

Portanto a diversidade na estrutura deriva da presença de subunidades diferentes, na posição entre flavonóides, da ramificação e a presença de substituintes não-flavonóides, como o ácido gálico e açúcares (Chen & et al., 2014a).

As proantocianidinas podem, ainda estar divididas em várias classes baseando-se nos padrões de hidroxilação das suas unidades e das ligações formadas entre elas, figura 8 (Fu & et al., 2014).

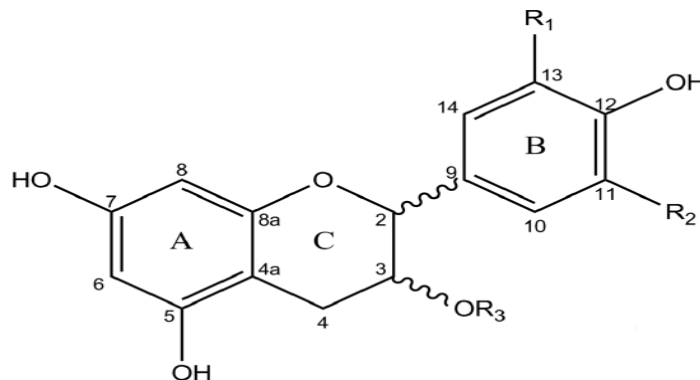


Figura 8 – Estrutura básica das proantocianidinas. Adaptado de Fu & et al., 2014.

Porém, as procianidinas existem sob duas formas, o tipo A e o tipo B, a diferença consiste nas ligações efetuadas às unidades estruturais, ou seja, o tipo B possui apenas uma ligação, enquanto o tipo A possui uma dupla ligação, figura 9 (Chen & et al., 2014b) (Määttä-Riihinen & et al., 2005). Estas formas também induzem diferentes efeitos (Chen & et al., 2014b).

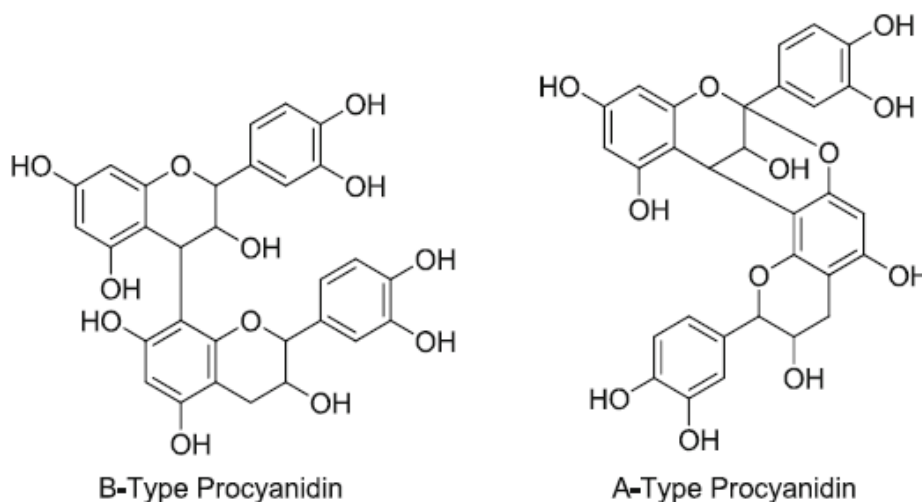


Figura 9 – Estruturas químicas de procianidinas B2 e A2. Adaptado de Mateos-Martín & et al., 2012.

Durante o isolamento e purificação de taninos de espécies de canela verificou-se que um trímero de procianidina do tipo B, a procianidina C-1 (PC-1), pode converter-se parcialmente num trímero de procianidina do tipo A, cinnamtannin B-1 (CTB-1), desde que as condições ambientais sejam as mais apropriadas. A conversão de um tipo de procianidina em condições básicas com NaHCO_3 e em condições neutras com radical DPPH têm sido relatadas, o que indica que a procianidina do tipo A pode ser formada através da oxidação do radical de procianidinas com a ligação do tipo B (Chen & et al., 2014b). Por outro lado, é sugerido que a transformação da procianidina do tipo B em tipo A, possivelmente, envolve uma reação de oxidação catalisada por uma enzima, em vez de um radical (Chen & et al., 2014b).

As propriedades físico-químicas das proantocianidinas dependem da sua estrutura química e do seu tamanho (Arimboor & et al., 2012), contudo possuem propriedades comuns, como: formarem complexos estáveis com iões metálicos e proteínas (Chen et al., 2014). A sua principal característica, e dos compostos fenólicos presentes em plantas no geral, é a capacidade de eliminar espécies reativas de oxigénio (ROS), que

incluem espécies de oxigénio radical e não-radical, tais como: $O_2^{\bullet-}$, HO^{\bullet} , H_2O_2 ; outros radicais livres resultantes da oxidação, RO^{\bullet} , ROO^{\bullet} , bem como aqueles que derivam das lipoproteínas de baixa densidade, proteínas e ácidos oligonucleicos (DNA e RNA) (Chen & et al., 2014a).

O grau de polimerização destas moléculas é extremamente elevado, tornando-se o fator responsável pela capacidade antioxidante (Arimboor & et al., 2012) (Hümmer & et al., 2008). Por sua vez, o número de átomos, a diferença de tamanho, e, ainda a presença de grupos funcionais, torna mais difícil a sua separação (Hümmer & et al., 2008).

Contudo, se as proantocianidinas forem colocadas em meio ácido permite que a sua dissociação em monómeros seja mais eficaz. A despolimerização destas estruturas dá origem a unidades de flavan-3-ol ou aos seus intermediários (Hümmer & et al., 2008) (Rösch & et al., 2004).

Existem vários alimentos que possuem estes compostos dos quais se destacam os frutos vermelhos, vinho, nozes e até alguns legumes (Fine, 2000) e cereais (Arimboor & et al., 2012).

A sua presença é determinada pela textura, cor e sabor que são características comuns às proantocianidinas (Arimboor & et al., 2012).

Inúmeros efeitos farmacológicos associados às proantocianidinas têm vindo a ser descritos na literatura como benéficos. Desta forma, as propriedades que têm sido mais evidentes são: as anti-carcinogénicas, antimicrobianas, antioxidantes (Chen & et al., 2014a) e antidiabéticas (Arimboor & et al., 2012) possuem, ainda propriedades cardioprotetoras e anti-arteriosclerótidas (Hümmer & et al., 2008). É de referir que as proantocianidinas têm sido usadas no tratamento de doenças periodontais (Fu & et al., 2014).

Todavia, estas também têm demonstrado inibir a peroxidação lipídica, a agregação das plaquetas, a permeabilidade capilar, e afeta os sistemas de enzimas, incluindo a fosfolipase A2, ciclooxigenase e lipoxigenase (Fine, 2000).

2.4. Aplicação e Importância das Proantocianidinas

Como tem sido descrito, as proantocianidinas exercem um papel fundamental na saúde, desta forma, torna-se pertinente tentar compreender as mais-valias que este composto demonstra e, para tal recorreremos a alguns alimentos que tenham este componente na sua constituição. Assim, podemos observar a composição e as propriedades benéficas que são evidenciadas, por exemplo em chás, vinho, canela ou, mesmo chocolate.

2.4.1. Cacau/Chocolate

Antigamente, o cacau ou chocolate era consumido devido às suas propriedades benéficas para a saúde, havendo diversas aplicações descritas (De Araujo et al., 2013). As três mais comuns são: induzir o aumento de peso em pacientes magros; estimulação do sistema nervoso, melhorar a digestão e eliminação (Katz et al., 2011).

Com o avançar dos anos e das tecnologias, numerosos estudos têm surgido evidenciando o valor por detrás das propriedades nutricionais do cacau e a sua possibilidade de prevenção de doenças (De Araujo et al., 2013).

O cacau é um produto vegetal bastante complexo que contém mais de 300 constituintes diferentes. Os compostos mais frequentes incluem: a manteiga de cacau (ácidos gordos, ácido palmítico e ácido esteárico) (Badrie, Bekele, Sikora, & Sikora, 2013), sais minerais (zinco, magnésio, potássio e ferro) e polifenóis, além de outros componentes, tais como: tiramina, serotonina e triptofano (De Araujo et al., 2013).

O chocolate contém vários polifenóis sendo constituído maioritariamente por flavonóides (De Araujo et al., 2013), nomeadamente os monómeros não-esterificados de flavonóides e procianidinas (Fraga et al., 2011).

Os que representam maior importância são a epicatequina, catequinas e procianidinas (Katz et al., 2011).

O chocolate é a segunda maior fonte de proantocianidinas (Badrie et al., 2013) e são elas que fornecem a maior parte da atividade antioxidante aos produtos derivados do cacau (Katz et al., 2011).

Uma vez mais as propriedades estão relacionadas com os seus constituintes e, como tal, o chocolate não é exceção, assim, verificam-se efeitos antioxidantes, efeitos benéficos a nível do endotélio (Katz et al., 2011), e a nível respiratório, bem como, a nível linfático e imunológico (De Araujo et al., 2013), estão, ainda implicados na redução do risco cardiovascular (Badrie et al., 2013).

É de salientar que o chocolate preto tem todas as propriedades acima referidas, incluindo uma melhor resistência à insulina e a descida da pressão arterial sistólica, já o chocolate branco não possui qualquer efeito significativo (Badrie et al., 2013).

2.4.2. Canela

A canela provém da árvore *Cinnamomum verum* (canela de Ceilão), que pertence à família das *Lauraceae* (Hardman, 2004).

Tal como outras especiarias, a canela é utilizada essencialmente na culinária como condimento, o seu sabor vem de um óleo aromático presente na composição da casca (Ding et al., 2011) e o seu sabor pungente e característico advém do aldeído cinâmico (Hardman, 2004). No entanto, estão presentes, outros químicos neste óleo essencial como a cumarina, ácido cinâmico e eugenol (Ding et al., 2011).

Como referi acima, a canela é usada na alimentação. O seu consumo exacerbado despertou a curiosidade dos investigadores das áreas da química e da farmácia, o que permitiu a realização de um estudo intensivo das propriedades desta especiaria (Ulbricht, Seamon, Windsor, Ambruster, & Bryan, 2011).

É de evidenciar que têm vindo a ser atribuídas outras utilidades à canela no que diz respeito à saúde, nomeadamente as suas qualidades curativas (Hardman, 2004), a nível

de problemas do trato gastrointestinal, controlo da glucose sanguínea e outras patologias associadas à coagulação, e, ainda no sistema imunitário (Ulbricht et al., 2011).

A canela é usada na produção de medicamentos convencionais, principalmente os ramos, óleos, folhas e a casca (Hardman, 2004). Contudo, as aplicações da canela não se remetem simplesmente às áreas terapêutica e alimentar, mas também à indústria, no que respeita as áreas de perfumaria e de cosmética (Ulbricht et al., 2011).

Os benefícios que aparentemente demonstra estão intimamente ligados aos constituintes presentes na casca, folhas e ramos. Dentro da variedade de compostos que apresenta, os compostos que se destacam são os compostos fenólicos, considerados os metabolitos secundários mais abundantes nas plantas, como já referido anteriormente (Risipail, Morris, & Webb, 2005).

Estes encontram-se, sobretudo, no extrato de canela, sendo responsáveis pela atividade antioxidante (Ulbricht et al., 2011).

Os extratos produzidos a partir da casca da árvore de canela têm na sua composição flavonóides, como catequinas, epicatequinas, as procianidinas e também ácidos fenólicos. Dentro das procianidinas, a canela contém particularmente a procianidina B2 e B3 (Jakhetia et al., 2010).

Os possíveis benefícios para a saúde, tanto de extratos aquosos como de óleos, ou de moléculas purificadas dessas soluções, são as propriedades antioxidantes, antibacterianas ou antifúngicas e anti-inflamatórias.

2.4.3. Chá

O chá é frequentemente a maior fonte de flavonóides na dieta (Ivey et al., 2013), muito embora a sua composição varie com a cultura, a idade da folha ou mesmo com a estação do ano (Pang et al., 2013).

A sua composição contém, sobretudo, seis unidades de flavan-3-ol: epigallocatequina-3 galato, epigallocatequina, epicatequina-3 galato (Suzuki, Ogawa, Sagesaka, & Isobe,

2006), epicatequina, galocatequina e catequinas (Pang et al., 2013). Por outro lado, cerca de mais de 3% do peso seco corresponde às proantocianidinas (Pang et al., 2013).

O potencial benéfico do chá aliado ao seu consumo tem sido atribuído, sobretudo, às propriedades antioxidativas dos polifenóis (Khan & Mukhtar, 2011).

As propriedades consistem na sua capacidade antioxidante, nas propriedades quimiopreventivas em relação ao cancro dos ovários e da próstata (Pang et al., 2013), nos seus efeitos antidiabéticos, e, ainda nos seus efeitos preventivos na doença cardiovascular (Khan & Mukhtar, 2011). Em especial, as catequinas possuem um papel importante na defesa contra as infeções (Pang et al., 2013).

Recentemente foi reportado que o consumo de chá verde unido a uma dieta controlada melhora, significativamente, o estado antioxidante e protege contra os danos oxidativos nos humanos (Khan & Mukhtar, 2011).

2.4.4. Cranberries

Cranberries é uma fonte rica em fitoquímicos, particularmente em compostos fenólicos (Tulio et al., 2014). Estes compostos estão subdivididos em classes, nomeadamente, flavonóides, flavonas, flavononas, isoflavonóides, flavan-3-ol e antocianidinas (Tulio et al., 2014).

Esta fruta também é conhecida por ter na sua constituição, proantocianidinas, essencialmente, as do tipo A (Blumberg et al., 2013), que estão associadas a propriedades antibacterianas e anti-adesivas (Tulio et al., 2014). Outras atividades também lhe são conferidas, como: cardiovascular (Hummer, Durst, Zee, Atnip, & Giusti, 2014), antimutagénica, anticarcinogénica e, ainda, possui atividade antioxidante (Blumberg et al., 2013).

As proantocianidinas e as catequinas representam as duas maiores fontes de antioxidantes nesta fruta, tendo, assim a capacidade de induzir os efeitos benéficos essenciais à saúde do homem (Määttä-Riihinen & et al., 2005).

2.4.5. Maçã

A maçã é das frutas mais consumidas e produzidas em todo o mundo (Verdu, Childebrand, Marnet, & Dupuis, 2013). Diversos estudos têm aliado o consumo da maçã com a redução do risco em doenças crônicas (Espley et al., 2014), como alguns cânceros, encontrando-se, igualmente, implicado na prevenção cardiovascular (Serra et al., 2012), bem como, da asma (Verdu et al., 2013). É de referir também que os compostos da maçã possuem efeitos benéficos no tratamento da doença de Alzheimer, no envelhecimento, nos diabetes e na prevenção gastrointestinal (Andre et al., 2012). Por conseguinte, os mecanismos por detrás destes benefícios ainda não foram totalmente estudados (Espley et al., 2014). Ainda assim, sabe-se que estas propriedades são possíveis devido à presença de compostos polifenólicos e triterpenos, que são os dois maiores grupos de metabolitos secundários encontrados nesta fruta (Andre et al., 2012).

Como podemos verificar, os efeitos para o homem são vantajosos, quer a nível anticancerígeno como anti-inflamatório.

De um modo geral a maçã é constituída por seis grupos de polifenóis: flavonóides, que estão subdivididos em monómeros, como catequinas; e em oligómeros, como as procianidinas (Verdu et al., 2013); mas, também é composta por ácido clorogénico e pequenas quantidades de outros ácidos hidroxicinâmicos (Andre et al., 2012), dihidrochalconas, flavonóis (Espley et al., 2014) e antocianidinas nas variedades com pele vermelha (Verdu et al., 2013).

Segundo um estudo realizado à pele e à polpa de várias qualidades de maçãs, os flavonóides são o grupo que mais predomina, e dos quais se destacam as catequinas, epicatequinas, oligómeros e polímeros de procianidinas (Andre et al., 2012).

Contudo, a existência de concentrações altas de procianidinas têm revelado que é possível inibir a ativação do fator NF-kB (Andre et al., 2012).

2.4.6. Vinho

A composição do vinho vai depender da variedade, os procedimentos realizados na sua produção, da região, entre outros fatores (S. Soares & et al., 2012).

O vinho, particularmente o tinto, contém uma série de polifenóis que possuem propriedades biológicas desejáveis. Na sua composição encontram-se ácidos fenólicos (como o cafeico, cinâmico, entre outros), resveratrol e flavonóides (como, as catequinas, epicatequinas e quercetina) (Gris et al., 2011).

Em particular, as proantocianidinas podem ser encontradas na polpa, na pele e nas sementes das uvas (Sun & Spranger, 2001).

Diversos estudos têm vindo a demonstrar o potencial antioxidante do vinho, de modo que existem mecanismos alvo que permitem uma explicação para os seus efeitos benéficos, dentro dos quais se destacam a inibição da fosfolipase A2 e da ciclooxigenase, a inibição da fosfodiesterase com um aumento das concentrações de nucleótido cíclico, e por último, a inibição de várias proteínas quinases envolvidas na sinalização celular (Soleas & et al., 1997).

É indiscutível que a presença de frutas e de vegetais numa dieta equilibrada para o ser humano é essencial, e se nela incluírem polifenóis maior é a probabilidade de prevenção de determinados cancros e outras doenças crónicas e inflamatórias, como é o caso da Doença Coronária (Soleas & et al., 1997).

A maior vantagem que o vinho apresenta em relação aos alimentos vegetais é a sua matriz de polifenóis ser solúvel e biodisponível, ao contrário do que se verifica com os alimentos vegetais que contêm os componentes fenólicos em polímeros, transformando-se em formas insolúveis, fortemente ligadas entre si ou compartimentadas, que dificultam a sua absorção (Soleas & et al., 1997).

Portanto, os grupos de polifenóis existentes nas uvas e, consequentemente no vinho são os flavonóides e os não-flavonóides (Soleas & et al., 1997). Como já foi referido anteriormente, o grupo dos flavonóides presentes no vinho são as catequinas, epicatequinas, galocatequinas e epigallocatequinas (Gris et al., 2011), enquanto no vinho tinto são encontrados com mais frequência as antocianidinas (Soleas & et al., 1997).

Também é possível encontrar pequenas quantidades de leuco-antocianidinas livres (flavon-3,4-diol) (Soleas & et al., 1997).

A classe estrutural das procianidinas mais comum nas uvas e no vinho é a do tipo B, uma vez que contém uma ligação direta de carbono-carbono entre as subunidades adjacentes (He, Pan, Shi, & Duan, 2008).

As proantocianidinas mais simples apresentam-se em dímeros, e nas uvas os mais comuns são 4 → 8 compostos ligados. Mesmo que as procianidinas ocorram em primeiro lugar como dímeros nas uvas, estas tendem a polimerizar e a predominar no vinho como taninos condensados, polímeros de procianidina de tamanho médio contendo 3 ou 5 subunidades (Soleas & et al., 1997).

Segundo um estudo realizado por Sun & Spranger, (2001), a presença das proantocianidinas na polpa das uvas é quase insignificante em comparação com a existente na pele e nas sementes. Nas sementes as proantocianidinas encontram-se, sobretudo, na forma polimérica, enquanto na pele a presença deste composto encontra-se em maior quantidade, apresentando-se, igualmente, na forma polimérica (Sun & Spranger, 2001).

A constituição tanto da pele como das sementes difere ligeiramente entre elas. A pele é constituída por (-) -epigallocatequina e por pequenas quantidades de (-) -epicatequina-3-O-galato; já as sementes possuem na sua constituição (+) - catequina, (-) -epicatequina e subunidades de (-) -epicatequina-3-O-galato (He et al., 2008).

2.5. Inflamação

A inflamação é a primeira reação do sistema imunitário à presença de corpos estranhos (Khansari & et al., 2009) e à irritação química (Pan & et al., 2010), de forma a proteger as células do organismo do Homem (Khansari & et al., 2009). A resposta do sistema imunitário integra diversos sistemas de defesa do corpo, dos quais se destaca o sistema complemento, da coagulação, da imunidade humoral e celular, citocinas, angiogénese, e dos processos de reparação (Sandhar & et al., 2011).

Esta é iniciada com a migração de células do sistema imunológico e libertação de mediadores, consequentemente, segue-se o recrutamento das células inflamatórias, nomeadamente macrófagos e neutrófilos, verificando-se a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) (Knab, Grippo, & Bentrem, 2014), espécies reativas de nitrogénio (RNS) e citocinas pró-inflamatórias (Pan & et al., 2010), e, ainda a estimulação da proliferação de células epiteliais (Knab et al., 2014).

Um dos principais mecanismos da inflamação consiste no recrutamento de macrófagos para participarem na batalha contra a invasão de microrganismos ou das suas toxinas, reconhecidos por anticorpos específicos que existem na superfície os recetores dos macrófagos (FCR) (Sandhar & et al., 2011).

Geralmente tem como característica ser auto-limitativa, pelo que uma inflamação ou um tratamento prolongado pode originar algumas doenças crónicas, como: cancro, doenças neurológicas, doenças cardiovasculares, entre outras (Pan & et al., 2010).

Para conhecer o processo inflamatório, há necessidade de entender o processo dos seus mediadores químicos. Sendo estas substâncias que aumentam as proteínas do plasma ou que provêm dos mastócitos, plaquetas, neutrófilos e macrófagos (Iwalewa & et al., 2007) ligando-se a recetores específicos nas células-alvo (Robbins & Cotran, 2008). O mediador é capaz de induzir a libertação de outros mediadores pela célula-alvo, produzindo um mecanismo de amplificação ou, por outro lado, neutralizando a ação do mediador inicial (Robbins & Cotran, 2008). Como mecanismo de amplificação esta ligação pode permitir um aumento da permeabilidade vascular, promovendo a quimiotaxia dos neutrófilos, a estimulação da contração do músculo liso, podendo

aumentar, ainda, a atividade enzimática, induzindo dor e/ou mediação de danos oxidativos (Iwalewa & et al., 2007).

Ainda assim, os mediadores possuem uma vida geralmente curta, uma vez que são rapidamente degradados ou inativados por enzimas ou inibidos por outros inibidores. Porém, se estas moléculas não forem devidamente controladas possuem efeitos que se podem tornar nocivos, existindo posteriormente mecanismos para impedir esse avanço (Robbins & Cotran, 2008).

A presença destes mediadores está dependente da duração da lesão que acaba por determinar a severidade da inflamação, sendo denominados por fatores pro-inflamatórios (Iwalewa & et al., 2007).

Podem ter origem química ou serem libertados por outras células do organismo. Alguns desses mediadores químicos referenciados dizem respeito ao óxido nítrico (NO), Prostaglandinas (PG), Leucotrienos (LC), citocinas (fator tumoral e interleucina-1) e as aminas vasoativas, como a histamina ou a serotonina (Iwalewa & et al., 2007).

A inflamação é considerada o maior precursor no desenvolvimento cancerígeno (Khansari & et al., 2009).

A cascata da inflamação é um processo complicado pelo que foi dividido em duas partes: inflamação crónica e inflamação aguda (Iwalewa & et al., 2007).

2.5.1. Inflamação Aguda e Inflamação Crónica

A inflamação aguda é caracterizada por ser de rápida instalação e de curta duração. Causada pela presença de exudados e proteínas do plasma e migração dos leucócitos, mais precisamente neutrófilos, para a área lesionada (Iwalewa & et al., 2007).

No entanto, a inflamação crónica possui uma duração de ação mais prolongada, manifestando-se pela presença de linfócitos e macrófagos, resultando em fibrose e necrose do tecido (Iwalewa & et al., 2007), está também associada à angiogénese (Khansari & et al., 2009). Esta inflamação torna-se crítica na maioria das doenças

humanas, tais como: obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas como artrite reumatoide e Alzheimer, mas, sobretudo no cancro (Pan & et al., 2010) (Aggarwal & et al., 2006) (Iwalewa & et al., 2007).

2.5.2. Metabolitos do Ácido Araquidónico ou Eicosanoides

Um dos passos fundamentais no processo inflamatório é a ativação da via do ácido araquidónico, que leva à produção de eicosanoides (Knab et al., 2014). As células respondem a estímulos de ativação ao modificarem as suas membranas celulares, produzindo mediadores lipídicos biologicamente ativos que vão atuar como agentes de sinalização de curta amplitude (Robbins & Cotran, 2008). Estes mediadores surgem pela rápida conversão do ácido araquidónico por duas principais enzimas ciclooxigenases (COX): COX-1 e a COX-2, que dão origem às Prostaglandinas e Tromboxanos, e pelas lipoxigenases que produzem os Leucotrienos e as Lipoxinas, após a ativação das células por estímulos inflamatórios (Robbins & Cotran, 2008).

A COX-1 é geralmente considerada como a enzima expressa constitutivamente que é responsável pela produção basal de prostanóides para a homeostase dos tecidos. Já a COX-2 é induzida por citocinas e fatores de crescimento, particularmente nos locais de inflamação, desta forma a COX-2 possui um papel-chave no estabelecimento da inflamação (Knab et al., 2014). É de salientar que vastos estudos têm indicado a COX-2 como fator importante na carcinogénese (Knab et al., 2014).

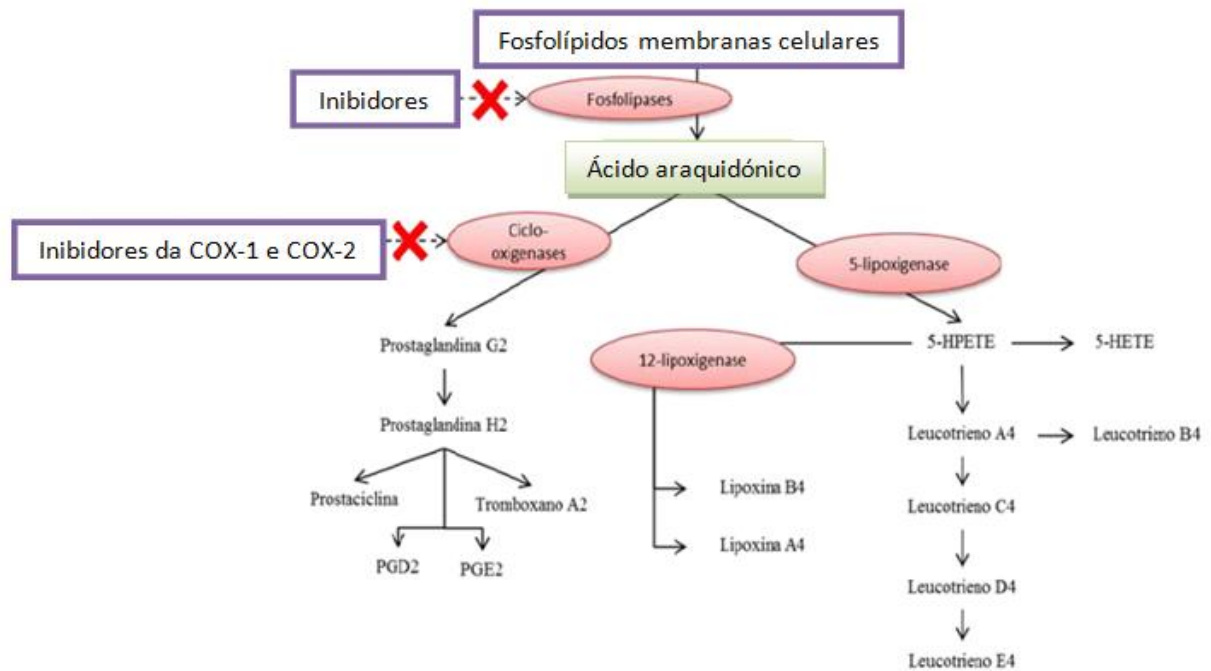


Figura 10 – Metabolitos do ácido araquidônico na inflamação e possíveis locais de intervenção farmacológica anti-inflamatória por compostos fitoquímicos. Adaptado de Robbins & Cotran, 2008.

Os Leucotrienos, enquanto derivam do mesmo precursor das prostaglandinas, são funcionalmente distintos. Estes são produzidos predominantemente por células inflamatórias, e uma vez que ocorre a ativação celular a lipoxigenase-5 (5-LOX) é deslocada para o envelope celular (Knab et al., 2014).

Ao contrário das Prostaglandinas e dos Leucotrienos, as Lipoxinas possuem caráter inibitório no que respeita à inflamação. As suas principais funções prendem-se com a inibição do recrutamento dos linfócitos e restantes componentes celulares da inflamação, e, ainda com a inibição da quimiotaxia e a adesão dos neutrófilos ao endotélio (Robbins & Cotran, 2008). O seu papel na resolução da inflamação pode ser relevante, visto que existe uma relação inversa entre a produção da lipoxina e dos leucotrienos (Robbins & Cotran, 2008).

2.5.3. Mediadores inflamatórios derivados das proteínas plasmáticas: Sistema Complemento

Existem mediadores que se encontram relacionados entre si, são derivados do plasma e desempenham funções chave nas respostas inflamatórias, destacando-se os sistemas: complemento; o das cininas e o dos fatores de coagulação (Robbins & Cotran, 2008).

Contudo, o mais importante para este trabalho é mesmo o primeiro, o sistema complemento.

O sistema complemento atua na defesa do organismo contra os agentes microbianos, quer na imunidade inata quer na adaptativa. Este é constituído por mais de 20 proteínas, podendo estar numeradas de C1 a C9 (Robbins & Cotran, 2008).

O processo de ativação do sistema é executado através de dois mecanismos: a via clássica, que é iniciada por complexos antígeno – anticorpo ou, pela via alternativa, sendo ativada por endotoxinas, polissacarídeos e globulinas (Robbins & Cotran, 2008).

Durante o processo de ativação diversos efeitos são gerados como resultado da quebra das proteínas, tais como: o aumento da permeabilidade vascular, a opsonização e a quimiotaxia (Robbins & Cotran, 2008).

Ainda assim, o sistema complemento é intensamente controlado por inibidores proteicos, tendo como exemplo, a regulação das enzimas C₃ e C₅-convertases pelo fator acelerador da decomposição, responsável pela proteólise da proteína C₃ do complemento (Robbins & Cotran, 2008).

2.5.4. Neutrófilos/Macrófagos/Monócitos

Os fagócitos estão implicados cada vez mais no processo inflamatório, sendo responsáveis pela produção de ROS e de outros radicais que fazem parte deste processo.

Os neutrófilos têm um papel bem definido na primeira linha de defesa contra patógenos microbianos mas, por causa do tempo de semivida ser curto e o fenótipo diferenciado, a sua importância está longe de ser considerada significativa (Mariani, Sena, & Roncucci,

2014). Contudo, ao encontrar sinais inflamatórios, os neutrófilos alteram a sua capacidade de resposta para permitir a migração de forma dirigida e aumentar a capacidade microbida. O tempo de vida dos neutrófilos é influenciada durante a inflamação para aumentar a sua ação antimicrobiana (Mariani et al., 2014).

Assim, a fagocitose de bactérias ou de substâncias estranhas está associada a um aumento do consumo de oxigénio por parte dos neutrófilos, durante o qual são produzidos outros radicais, como o anião superóxido, peróxido de hidrogénio e radical hidroxilo (Iwalewa & et al., 2007).

Os macrófagos do tipo I são as células que produzem em grande quantidade citocinas pró-inflamatórias ativadas pela via clássica (Johnson, Milner, & Makowski, 2013), e, que estão implicadas na morte de agentes patogénicos e de células tumorais segregados por agentes, como o fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina 12 (IL-12) e de intermediários de oxigénio (ROS) (Mariani et al., 2014).

Já os macrófagos do tipo II que são gerados por diversos sinais que incluem algumas interleucinas, como IL-4 (Johnson et al., 2013); IL-13 e IL-10; e as hormonas glucocorticoides moderam a resposta inflamatória eliminando os resíduos celulares e promovendo a angiogénese e a remodelação dos tecidos, libertando citocinas, incluindo a IL-10 (Mariani et al., 2014).

2.5.5. Basófilos e Mastócitos

Estas células estão implicadas na produção de histamina e de outros grânulos, como leucotrienos, pelo que estão diretamente implicados em processos alérgicos (Khansari & et al., 2009). Desta forma, possuem um papel relevante na inflamação crónica, particularmente em algumas doenças, como a asma, rino-conjuntivites, urticária e anafilaxia, mas também na artrite reumatoide (Iwalewa & et al., 2007).

2.5.6. Linfócitos T e B

Os Linfócitos B e T participam na inflamação por fosforilação do aminoácido tirosina. A ativação de ambos, mais especificamente dos linfócitos B, é acompanhada pela fosforilação da tirosina, esta por sua vez, ocorre por ligação da interleucina-7 (IL-7) ao seu recetor em diversas proteínas, resultando na estimulação do *turnover* do fosfatidilinositol permitindo o aumento do inositol trifosfato (IP3) e a síntese de novas moléculas de DNA (Iwalewa & et al., 2007). É também descrito que os linfócitos B e T podem influenciar a obesidade e a resistência à insulina (Johnson et al., 2013). Os linfócitos B têm sido estudados em menor extensão, contudo contribuem para a resistência à insulina, por outro lado temos as células T que foram as primeiras a serem identificadas na gordura visceral, onde a secreção de citocinas demonstrou que à uma regulação da inflamação causada pelo tecido adiposo (Johnson et al., 2013).

2.5.7. Citocinas

As citocinas são proteínas produzidas principalmente por linfócitos ativados e por macrófagos, que modulam a função de outros tipos celulares (Robbins & Cotran, 2008). São considerados mediadores da comunicação intracelular, já que contribuem para a transdução do sinal, estando implicadas na inflamação, mas, por outro lado regulam outros processos, como a reparação do tecido, hematopoiese, inflamação e a resposta imunológica (Iwalewa & et al., 2007).

Portanto, os principais responsáveis que desempenham papéis importantes no processo inflamatório são:

- ➔ Migração leucocitária;
- ➔ Óxido nítrico (NO) e o ácido araquidónico;
- ➔ Espécies reativas de Oxigénio (ROS);
- ➔ Citocinas pró-inflamatórias;
- ➔ Factor nuclear kappa B (NF- κ B) (Iwalewa & et al., 2007).

2.6. Inflamação e Obesidade

A obesidade é definida como um excesso de tecido adiposo, especialmente quando o índice de massa corporal é superior a 30 kg/m^2 (Aguirre, Arias, Macarulla, Gracia, & Portillo, 2011) (Dixit, 2008). A sua prevalência tem vindo a aumentar de forma constante ao longo dos tempos (Sismanopoulos et al., 2013).

Esta é considerada como um estado de inflamação crónica de baixo grau, caracterizada por acumulação de macrófagos e de outros constituintes no tecido adiposo, e produção anormal de mediadores pró-inflamatórios (Terra et al., 2011), como as citocinas (O'Leary & Hackney, 2014).

O tecido adiposo é então um órgão endócrino que segrega várias adipocitoquinas pró-inflamatórias, como referido, dentro das quais salientam-se: o PLAT, TNF- α , IL-6, MCP-1, resistina (Galleano et al., 2012) (Martins, 2013), leptina, e, ainda a adiponectina (Pan & et al., 2010) (Martins, 2013).

A leptina é uma hormona importante na regulação do gasto energético e ingestão calórica para manter o equilíbrio energético. A sua deficiência resulta no aumento do peso corporal representando um risco elevado para o desenvolvimento de Diabetes do tipo 2 (Pan & et al., 2010).

Quando se verifica um aumento de adipócitos a nível visceral ocorre consequentemente, um aumento da produção de adipocitoquinas provocando inflamação quer a nível local como sistémico (Galleano et al., 2012).

Estudos recentes demonstram que uma disfunção nos adipócitos possui um papel determinante, ou seja, é capaz de influenciar o desenvolvimento de resistência à insulina e a progressão para Diabetes do tipo 2 (Johnson et al., 2013).

Este estado inflamatório acarreta efeitos sistémicos negativos, incluindo: alteração no metabolismo, morfologia muscular, endócrino, imunidade e função cardíaca (Johnson et al., 2013), dando alguns exemplos mais específicos, temos: dislipidémia, diabetes do tipo 2, cancro, doenças cardiovasculares, como se pode verificar na figura 11 (Tateya, Kim, & Tamori, 2013). Os efeitos que advêm destas mudanças podem levar a uma

diminuição da qualidade de vida e aumentar o risco de mortalidade e morbidade (O'Leary & Hackney, 2014).

A obesidade está associada a uma enorme quantidade de patologias que juntas se definem clinicamente por Síndrome Metabólico (Johnson et al., 2013). A sua patogénese é influenciada por diversos fatores, bem como a interação que daí resulta, onde se destacam as características genéticas hereditárias, comportamentais, fatores físicos ou psicológicos ou, características ambientais, o acesso e disponibilidade aos alimentos, o nível educacional e/ ou socioeconómico (Johnson et al., 2013).

Ao longo da última década, tem-se ligado a obesidade à inflamação. Ao contrário do que acontece quando se verifica uma resposta aguda a uma lesão, que por norma induz dor e inchaço e é tratada e aliviada através do uso de antibióticos; a inflamação associada à obesidade é uma doença crónica, que se apresenta de forma insidiosa (Johnson et al., 2013). O mecanismo que regula a ativação da inflamação é multifatorial (Johnson et al., 2013).

As citocinas, espécies reativas de oxigénio (ROS), e outros agentes produzidos por células do sistema imunológico e adipócitos são libertados e podem ativar importantes vias de *stress* e interromper os processos metabólicos críticos envolvidos na obesidade, tais como a cascata de sinalização de insulina (Johnson et al., 2013).

A primeira relação entre a obesidade e a inflamação é evidenciado pela libertação de TNF- α a partir dos adipócitos (Hummasti & Hotamisligil, 2010). Conforme aumenta o teor de lípidos no tecido adiposo, os adipócitos sintetizam TNF- α e várias citocinas (IL-1b e IL-6) que alteram o número e tamanho das células, que vai influenciar a lipoproteína lipase, resultando no aumento do estado inflamatório. O TNF- α também é responsável pela indução da resistência à insulina, por desregulação da fosforilação do recetor de insulina, diminuição de captação de glucose e da expressão do transportador da glucose do tipo 4 (GLUT-4) (Pan & et al., 2010).

Outra das características inflamatórias relevantes no tecido adiposo é o recrutamento das células imunes e inflamatórias tais como neutrófilos, eosinófilos e macrófagos. Estudos realizados em ratos e em humanos mostram que quando se está perante um estado de obesidade, a infiltração de macrófagos é elevada no tecido adiposo (Pan & et al., 2010).

Grandes adipócitos secretam sinais quimiotáticos, tais como a proteína quimiotática de monócitos -1 (MCP-1), para provocar a infiltração de macrófagos, que, em seguida, leva ao aparecimento de uma doença crônica (Pan & et al., 2010).

O aumento dos níveis de proteína C reativa (PCR) são encontrados em muitos indivíduos obesos, e as concentrações circulantes da mesma estão relacionadas com o desenvolvimento da doença cardiovascular, indicando a associação de obesidade e doenças cardiovasculares (Pan & et al., 2010).

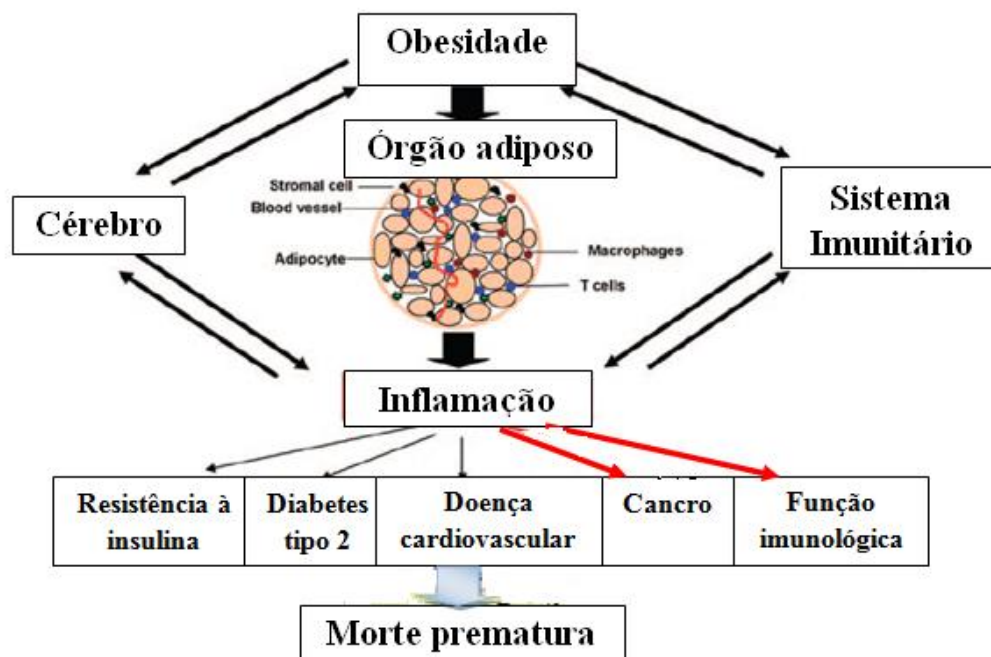


Figura 11 - Interações adiposo - sistema imunológico durante a obesidade. Os produtos derivados do cérebro e do sistema imunológico, que regulam a obesidade e função destes sistemas, também podem ser afetados pela obesidade. A expansão do órgão adiposo durante a obesidade e as interações entre leucócitos e adipócitos no tecido adiposo também são responsáveis por aumento da inflamação. Os nutrientes derivados do excesso de inflamação durante a obesidade afeta a função imunológica e é responsável por doenças acessórias da obesidade, levando à morte prematura. Adaptado de Dixit, 2008.

As proantocianidinas previnem a inflamação de baixo-grau, desde que seja ajustado o desequilíbrio das citocinas no tecido adiposo, aumentando as moléculas anti-inflamatórias e diminuindo as pró-inflamatórias (Terra et al., 2011).

Através de um estudo realizado por Terra et al., (2011) foi demonstrado que as proantocianidinas modulam, parcialmente, os níveis de plasma e de citocinas no tecido através da redução da infiltração dos macrófagos no tecido adiposo e da atividade do NF-kB no fígado. Embora, as proantocianidinas sejam eficazes na prevenção do aparecimento da inflamação, não é claro que estas possuam efeitos anti-inflamatórios, bem como, se são capazes de ajudarem na resolução da inflamação (Terra et al., 2011).

Uma vez mais, os estudos revelam que o consumo diário de proantocianidinas é essencial na prevenção da inflamação de baixo-grau, tanto sistêmica como local, no tecido adiposo, bem como, no músculo e fígado, o que permite melhorar a resistência à insulina induzida pela obesidade (Terra et al., 2011).

2.7. *Inflamação e Doenças Cardiovasculares*

A doença cardiovascular (DCV) é atualmente a principal causa de morbilidade e de mortalidade em todo o mundo (Byun et al., 2014).

Embora os avanços realizados pelos profissionais de saúde nesta área, ainda não sejam suficientes, uma vez que a população, pouco faz para combater o sedentarismo, uma má alimentação ou mesmo os hábitos tabágicos, considerados os principais fatores deste tipo de doenças (Holt, Heiss, Kelm, & Keen, 2012).

A doença cardiovascular é parcialmente caracterizada por ser uma inflamação crónica (Holt et al., 2012) e, onde se verifica um aumento da expressão de moléculas de adesão celular, como a molécula de adesão intracelular 1 (ICAM-1), a molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1), e E-selectina, na superfície das células endoteliais ativas (Hall et al., 2005), bem como, de uma desregulação no sangue periférico e nas células vasculares, inclusive leucócitos e músculo liso (Holt et al., 2012). Além disso, a síntese de quimiocinas, tais como proteína quimiotática de monócitos- 1 (MCP-1), no interior da célula endotelial é aumentada (Hall et al., 2005).

A circulação deste tipo de moléculas de adesão é considerada uma predisposição ao aparecimento de uma doença cardiovascular, uma vez que indicam um estado pró-inflamatório na vasculatura (Hall et al., 2005).

Os vasos sanguíneos consistem numa camada de células endoteliais e uma camada de músculo liso (Byun et al., 2014). O endotélio vascular é provavelmente o tecido mais extenso do corpo, sendo composto por uma única camada de células localizadas entre o sangue em circulação e a parede do vaso. Além deste ser considerado uma barreira física, também possui um papel determinante em muitas funções fisiológicas, como a angiogénese, o metabolismo, a adesão de células inflamatórias, a agregação de plaquetas, o tónus vascular e a permeabilidade vascular (Byun et al., 2014).

Assim, o endotélio vascular é o principal responsável por manter o equilíbrio entre o relaxamento vascular e a vasoconstrição. Uma perturbação desse mesmo equilíbrio implica uma disfunção endotelial, que por sua vez vai afetar o tónus vascular causando danos na parede arterial, levando à DCV, à morbilidade e mortalidade (Byun et al., 2014).

Os fatores de risco associados, referidos anteriormente, como a dislipidemia, hipertensão e o tabaco, podem promover o processo inflamatório, por outro lado, a idade também está associada às doenças cardiovasculares (Holt et al., 2012). As desigualdades relacionadas com a idade no controlo da inflamação, no *stress* oxidativo excessivo e na diminuição da reparação celular podem contribuir para o desenvolvimento da progressão da doença (Holt et al., 2012).

Esta é uma doença com numerosas patologias, nas quais os processos de sinalização das espécies reativas de oxigénio e de nitrogénio (ROS e RNS) desempenham um papel bastante importante (Afanas, 2011).

A disfunção endotelial e a diminuição da produção de óxido nítrico são manifestações precoces e marcas de doenças vasculares (Khoo & et al., 2010). O aumento do *stress* oxidativo, devido à disfunção endotelial, altera várias funções fisiológicas tais como a adesão de leucócitos, a agregação plaquetária e o fluxo de sangue no endotélio (Khoo & et al., 2010). Desta forma uma das principais razões por trás desta doença é o *stress* oxidativo (Sandhar & et al., 2011).

As proantocianidinas protegem o organismo contra vários processos inflamatórios, que são responsáveis pelo aparecimento de diversas patologias cardiovasculares, como a aterosclerose. A ação destes compostos na inflamação relaciona-se com a capacidade destas interferirem com a expressão de citocinas inflamatórias e com a limitação da expressão de adesinas ao nível do endotélio.

A associação inversa entre o consumo de frutas e vegetais e o risco de morbilidade e mortalidade relacionada com as DCV (Byun et al., 2014) têm gerado um enorme interesse epidemiológico, onde diversos estudos sugerem que esta relação advém de uma alimentação rica em frutas e vegetais (Pons et al., 2014), particularmente, em compostos ricos em flavonóides (Serra et al., 2012).

Portanto, estes estudos têm vindo a demonstrar que a administração de flavonóides pode levar a um decréscimo da incidência das doenças cardiovasculares e suas consequências (Byun et al., 2014), sugerindo que a prática de uma alimentação saudável, rica em frutas e vegetais, tem vindo a indicar resultados positivos na prevenção das doenças cardiovasculares (Wang, Ouyang, Liu, & Zhao, 2014).

O consumo de certas classes de flavonóides pode ser mais eficaz para a saúde humana que o consumo total de flavonóides (Wang et al., 2014).

Assim, dentro do grupo dos flavonóides, as proantocianidinas são as mais importantes, uma vez que possuem uma proporção substancial de estruturas moleculares únicas (proantocianidinas do tipo A) que contribuem para a sua atividade anti-adesão bacteriana (Wang et al., 2014) tornando-se essenciais na proteção das DCV, bem como na redução dos riscos a ela associados (Holt et al., 2012). E, ainda são conhecidas como compostos vaso-relaxantes endotélio-dependentes que podem ser encontrados numa variedade de alimentos (Byun et al., 2014).

2.7.1. Influência dos flavonóides na saúde vascular

A hemóstase vascular é mantida através de múltiplas interações complexas entre o endotélio e as células do músculo liso e do tecido conjuntivo subjacente da parede do vaso. Há um vasto número de mediadores que são produzidos a partir do endotélio que têm como função a regulação do tônus muscular, do grupo dos vasodilatadores destacam-se o NO e a prostaciclina; enquanto do grupo dos vasoconstritores, temos a endotelina-1 (Holt et al., 2012). Ao mesmo tempo alguns destes mediadores, como o NO, podem ter efeitos marcados na remodelação das células do músculo liso, ativação plaquetária e inflamação (Holt et al., 2012).

É sabido que os fatores de risco cardiovascular podem modular a homeostase vascular através da perturbação de mediadores derivados do endotélio, bem como através da remodelação da sua vasculatura (Holt et al., 2012).

É importante ressaltar que não há interferência entre o endotélio e o músculo liso vascular, que possa ser afetada por fatores conhecidos de risco cardiovascular, bem como as escolhas de estilo de vida, como por exemplo a dieta (Holt et al., 2012).

A relação entre fatores dietéticos e a doença cardiovascular foi muitas vezes considerada como principal e quase exclusivamente dependente do consumo e do metabolismo de lípidos (especialmente, gordura saturada e colesterol), levando ao aumento do colesterol sérico, em particular dos níveis de lipoproteína de baixa

densidade (LDL), resultando em alterações vasculares ateroscleróticas (Serra et al., 2012).

Atualmente existem numerosos estudos epidemiológicos, controlados e randomizados de intervenção clínica (Holt et al., 2012) onde foram avaliados os efeitos dos flavonóides na dieta sobre os fatores de risco cardiovascular (Wang et al., 2014).

Como já foi referido a importância destes estudos é fundamental, no que respeita à ligação entre a ingestão de fatores dietéticos específicos, como os flavonóis, com um risco reduzido de DCV (Holt et al., 2012). Contudo, a matriz dos alimentos é bastante complexa, de modo que se torna mais complicado obter resultados fidedignos (Holt et al., 2012).

Assim, a chave para o sucesso será o uso de produtos alimentares que são bem caracterizados por micro e macronutrientes e o conteúdo fitoquímico. Este processo é crítico para alimentos ricos em flavonol, tais como cacau, chá e vinho tinto (Holt et al., 2012).

2.8. *Cancro*

Diversos estudos têm vindo a demonstrar uma relação direta entre a inflamação crónica e o cancro (Khansari & et al., 2009).

Segundo Amin & et al., (2009), o cancro é uma das maiores causas de morte, contudo pode ser prevenida. Os dois métodos mais importantes que estão implicados na redução do risco de cancro são: evitar agentes químicos, biológicos e físicos que possam potenciar o seu aumento, e, por outro lado, a conhecida dieta rica em alimentos que ajudam na prevenção do mesmo, como é o caso dos alimentos ricos em flavonóides e polifenóis antioxidantes (Amin & et al., 2009).

2.8.1. *Etiologia, Inflamação e Cancro*

Segundo Shishodia et al., (2007), o cancro consiste numa doença hiperproliferativa que afeta os órgãos vitais através da invasão e da angiogénese, originando diversas metástases (Shishodia et al., 2007), podendo estar na sua origem, perturbações no metabolismo do crescimento (Sandhar & et al., 2011).

As células cancerosas são diferenciadas das normais, pela manifestação de vários graus de proliferação, perda de função, invasão e metástases (Sandhar & et al., 2011).

A metástase tumoral consiste num processo de múltiplos passos envolvendo a adesão celular, degradação da matriz extracelular e a migração celular. O potencial metastático das células tumorais é influenciado pelo equilíbrio entre a expressão de proteases e a suas proteínas inibidoras (Adams et al., 2010).

Como já foi referido, a progressão e o desenvolvimento do cancro estão intimamente relacionadas com a inflamação (Sharma & Vinayak, 2011a).

2.8.1.1. p53

O fator nuclear p53 possui um papel importante na proteção das células da tumorigênese (Valko & et al., 2007), bem como, no controlo do ciclo celular, apoptose, integridade genómica e reparação do *DNA*, em resposta ao *stress*, tendo sido considerado, também, o guardião do genoma (Amin & et al., 2009). Este fator é ativado pela radiação-UV, radiação-gama, hipoxia, deprivação nucleotídica, entre outros (Valko & et al., 2007).

2.8.1.2. TNF- α

O fator de necrose tumoral (TNF- α) foi isolado primeiro que outras citocinas anti-tumorais (Aggarwal & et al., 2006), sendo ativado pelo fator nuclear – kappa B (NF-kB) (Liao et al., 2008). O fator nuclear NF-kB é considerado o principal fator de transcrição nas doenças inflamatórias crónicas (Andre et al., 2012).

Este fator tende a desempenhar um papel central na regulação da resposta celular aos desafios ambientais, tais como: *stress*, infeção e inflamação (Mariani et al., 2014).

Contudo, a ativação do fator pode ser induzida pelos radicais livres, citocinas (Mariani et al., 2014), inflamação, carcinogénese, promotores do tumor, luz UV, raio-x, invasão, metástases, entre outros (Amin & et al., 2009).

Este fator é considerado uma importante citocina pró-inflamatória (Andre et al., 2012).

Vários genes pro-inflamatórios, como por exemplo, o gene TNF- α , COX-2, as interleucinas (Pashkow, 2011) e as quimiocinas (Aggarwal & et al., 2006), apresentam um papel bastante importante na supressão da apoptose, proliferação, angiogénese, invasão e metástase (Khansari & et al., 2009). Estes genes são induzidos e regulados pelo fator de transcrição NF-kB, que se encontra ativo na maior parte dos tumores (Sharma & Vinayak, 2011).

Este fator providencia uma ligação entre a inflamação e o desenvolvimento do cancro (Mariani et al., 2014), tornando-se no maior fator que controla a habilidade das células malignas de resistirem ao mecanismo de vigilância tumoral (Sharma & Vinayak, 2011), estando implicado na regulação de genes que se encontram envolvidos na transformação celular, proliferação e angiogénese (Valko & et al., 2007) regula, também, a expressão de várias moléculas, como as proteínas de adesão celular, ciclooxygenase-2, óxido nítrico sintetase, citocinas inflamatórias, entre outras (Sharma & Vinayak, 2011).

Na inflamação crónica, a produção das citocinas e as quimiocinas pelas células inflamatórias ativam o fator NF- κ B, que se desloca para o núcleo, induzindo a expressão de certas proteínas de adesão e inibidores da apoptose que promovem, assim a sobrevivência celular (Mariani et al., 2014). Portanto, a capacidade do NF- κ B para a supressão da apoptose e a indução da expressão de proto-oncogenes tem sugerido que este fator participa ativamente em vários processos de oncogénese (Sharma & Vinayak, 2011).

Tornando-se cada vez mais saliente que o microambiente do tumor, causado pelos mediadores e efectores celulares da inflamação, é indispensável ao processo neoplásico, proliferação, migração e sobrevivência das células malignas (Sharma & Vinayak, 2011).

2.8.1.3. *Cox-2*

A ciclooxygenase é uma enzima-chave responsável pela biossíntese de prostaglandinas provenientes do ácido araquidónico. Divide-se em duas isoformas, nomeadamente, a COX-1 e a COX-2 (Mariani et al., 2014).

Durante a inflamação a COX-2 é a única enzima que é desregulada nos macrófagos, sendo também expressa pelas células não-inflamatórias, como é o caso dos fibroblastos, as células epiteliais e endoteliais (Khansari & et al., 2009).

Diversos estudos têm revelado que a produção da COX-2 encontra-se aumentada em vários cancros como, colon, pulmão, esófago, entre outros. As infeções bacterianas e as

citocinas inflamatórias podem ser, igualmente, responsáveis pelo aumento da expressão da COX-2 (Khansari & et al., 2009).

Capítulo 3: Conclusão

As células inflamatórias produzem mediadores solúveis, tais como, metabolitos do ácido araquidônico, citocinas e quimiocinas, que atuam através do recrutamento de mais células inflamatórias para o local da lesão, levando à produção de mais espécies reativas (Reuter et al., 2010).

Os macrófagos e os neutrófilos são as células que estão, especialmente, envolvidas em processos de carcinogénese, mas, as ciclooxigenases são cruciais para as vias inflamatórias (Mariani et al., 2014). Estes mediadores-chave podem ativar a cascata de transdução, assim como, induzir alterações a nível dos fatores de transcrição, como o fator nuclear kB (NF-kB), proteína ativadora-1 (AP-1), entre outros (Reuter et al., 2010).

As frutas e vegetais são fontes naturais de flavonóides. A variedade de flavonóides existentes demonstra consideráveis propriedades químicas, físicas e fisiológicas (Kumar & Pandey, 2013).

Os flavonóides, como já foi referido, ocorrem naturalmente e possuem um amplo espectro, pelo que se tornaram características essenciais no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (Tapas & et al., 2008). Quer sejam naturais, semissintéticos ou sintéticos, sozinhos ou associados a outras estratégias preventivas ou terapêuticas, poderão vir a ser os futuros medicamentos contra doenças crónicas (Fraga et al., 2011).

Das diversas propriedades biológicas que demonstram, as que assumem elevada importância para a saúde do Homem são: as atividades antioxidantes e os efeitos antiproliferativos (Tapas & et al., 2008).

Vários estudos têm evidenciado a potencialidade dos antioxidantes na proteção contra danos oxidativos e, como tal, oferecem uma esperança na prevenção de doenças crónicas (Pandey & Rizvi, 2009).

É evidente que as proantocianidinas são um dos compostos mais enriquecedores para a saúde devido às suas propriedades benéficas.

A pesquisa sobre as reações das proantocianidinas quer direta ou indiretamente pode oferecer uma compreensão sistemática e abrangente sobre a alteração dos compostos polifenólicos, nomeadamente mudanças que se podem verificar a nível das proantocianidinas que visam uma melhoria na qualidade de algumas frutas ou mesmo de bebidas, como o vinho (He et al., 2008).

As propriedades deste composto são mais que muitas, mas as que são verdadeiramente importantes prendem-se com a prevenção das doenças cardiovasculares (Pons et al., 2014) e de diversos cancros (Chen et al., 2014), as propriedades anti-diabéticas (Arimboor & et al., 2012), antioxidantes (Blumberg et al., 2013) e anti-inflamatórias (Wang et al., 2014).

Para conseguirmos aprofundar mais sobre os constituintes das diversas frutas e vegetais, bem como, da absorção e excreção há necessidade de determinar e melhorar as técnicas de análise já existentes (Goufo & Trindade, 2014). Por outro lado, a baixa disponibilidade dos flavonóides pode indicar um novo desafio para os investigadores (Amin & et al., 2009).

Com base neste trabalho, é possível concluir que do grupo dos flavonóides, particularmente as procianidinas são extremamente importantes nos processos de inflamação, bem como, na prevenção de diversas doenças crónicas, como é o caso das doenças cardiovasculares ou cancros. Ficando, assim, demonstrado que este é um dos caminhos a seguir para eventuais curas.

Bibliografia

- Adams, L. S., Phung, S., Yee, N., Seeram, N. P., Li, L., & Chen, S. (2010). Blueberry phytochemicals inhibit growth and metastatic potential of MDA-MB-231 breast cancer cells through modulation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *Cancer Research*, 70(9), 3594–605.
- Afanas, I. (2011). ROS and RNS Signaling in Heart Disorders : Could Antioxidant Treatment Be Successful ? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, 1–13.
- Aggarwal, B. B. et al. (2006). Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochemical Pharmacology*, 72(11), 1605–21. doi:10.1016/j.bcp.2006.06.029
- Aggarwal, & et al. (2006). Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochemical Pharmacology*, 72(11), 1605–21.
- Aguirre, L., Arias, N., Macarulla, M. T., Gracia, A., & Portillo, M. P. (2011). Beneficial Effects of Quercetin on Obesity and Diabetes. *The Open Nutraceuticals Journal*, 4, 189–198.
- Amin, & et al. (2009). Perspectives for cancer prevention with natural compounds. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 27(16), 2712–25.
- Andre, C. M., Greenwood, M., Walker, E. G., Rassam, M., Sullivan, M., Perry, N. B., & Laing, W. A. (2012). Anti-In fl ammatory Procyanidins and Triterpenes in 109 Apple Varieties. *Agricultural and Food Chemistry*, 60, 10546–10554.
- Angelo, P., & et al. (2007). Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão Phenolic compounds in foods – A brief review, 66(1), 1–9.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Ozyürek, M., Celik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... Ozyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity

- assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1496–547.
- Arimboor, R., & et al. (2012). Effect of polymerization on antioxidant and xanthine oxidase inhibitory potential of sea buckthorn (*H. rhamnoides*) proanthocyanidins. *Journal of Food Science*, 77(10), C1036–41.
- Babbar, N., & et al. (2013). *Therapeutic and nutraceutical potential of bioactive compounds extracted from fruit residues* (pp. 37–41).
- Badrie, N., Bekele, F., Sikora, E., & Sikora, M. (2013). Cocoa Agronomy, Quality, Nutritional, and Health Aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37–41.
- Blumberg, J. B., Camesano, T. A., Cassidy, A., Kris-etherton, P., Howell, A., Manach, C., ... Vita, J. A. (2013). Cranberries and Their Bioactive Constituents in Human Health. *American Society for Nutrition.*, 4, 618–632.
- Bouayed, J., & Bohn, T. (2010). Exogenous Antioxidants—Double-Edged Swords in Cellular Redox State: Health Beneficial Effects at Physiologic Doses versus Deleterious Effects at High Doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228–237.
- Byun, E.-B., Sung, N.-Y., Yang, M.-S., Song, D.-S., Byun, E.-H., Kim, J.-K., ... Kim, J.-H. (2014). Procyanidin C1 causes vasorelaxation through activation of the endothelial NO/cGMP pathway in thoracic aortic rings. *Journal of Medicinal Food*, 17(7), 742–8.
- Chen, & et al. (2014a). Condensed tannins from *Ficus virens* as tyrosinase inhibitors: structure, inhibitory activity and molecular mechanism. *PloS One*, 9(3), e91809.
- Chen, L., & et al. (2014b). Oxidative conversion of B- to A-type procyanidin trimer: evidence for quinone methide mechanism. *Food Chemistry*, 154, 315–22.
- Chen, Liang, G., Chai, W.-M., Feng, H.-L., Zhou, H.-T., Shi, Y., & Chen, Q.-X. (2014). Antioxidant and antityrosinase proanthocyanidins from *Polyalthia longifolia* leaves. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, xx(xx), 1–5.

- Chuang, C., & McIntosh, M. K. (2011). Potential Mechanisms by Which Polyphenol-Rich Grapes Prevent Obesity-Mediated Inflammation and Metabolic Diseases. *Annu. Rev. Nutr.*
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(10), 7313–52.
- De Araujo, Q. R., Gattward, J. N., Almoosawi, S., Costa Silva, M. D. G. C. P., Dantas, P. A. D. S., & Júnior, Q. R. D. A. (2013). Cacao and Human Health: from Head to Foot - A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37–41.
- Ding, Y., Wu, E. Q., Liang, C., Chen, J., Tran, M. N., Hong, C. H., ... Kang, J. S. (2011). Discrimination of cinnamon bark and cinnamon twig samples sourced from various countries using HPLC-based fingerprint analysis. *Food Chemistry*, 127(2), 755–60.
- Dixit, V. D. (2008). Adipose-immune interactions during obesity and caloric restriction: reciprocal mechanisms regulating immunity and health span. *Journal of Leukocyte Biology*, 84(4), 882–92.
- Espley, R. V., Butts, C. A., Laing, W. A., Martell, S., Smith, H., Mcghie, T. K., ... Hellens, R. P. (2014). Dietary Flavonoids from Modified Apple Reduce Inflammation Markers and Modulate Gut Microbiota in Mice. *J. Nutr.*, 144, 146–154.
- Fine, A. M. (2000). Oligomeric Proanthocyanidin Complexes : Applications Oligomeric Proanthocyanidins. *Altern Med Rev*, 5(2), 144–151.
- Fraga, C. G., Litterio, M. C., Prince, P. D., Calabró, V., Piotrkowski, B., & Galleano, M. (2011). Cocoa flavanols : effects on vascular nitric oxide and blood pressure. *J. Clin. Biochem. Nutr*, 48(1), 63–67.
- Fu, Y., & et al. (2014). Structural Elucidation and Antioxidant Activities of Proanthocyanidins from Chinese Bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) Leaves. *PloS One*, 9(5).

- Galleano, M., Calabro, V., Prince, P. D., Litterio, M. C., Piotrkowski, B., Vazquez-Prieto, M. a, ... Fraga, C. G. (2012). Flavonoids and metabolic syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1259, 87–94. doi:10.1111/j.1749-6632.2012.06511.x
- Georgiev, V., & et al. (2014). Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*, 6(1), 391–415.
- Gibellini, L., Pinti, M., Nasi, M., Montagna, J. P., De Biasi, S., Roat, E., ... Cossarizza, A. (2011). Quercetin and cancer chemoprevention. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2011, 591356.
- González, R., & et al. (2011). Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 331–62.
- Goufo, P., & Trindade, H. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food Science & Nutrition*, 2(2), 75–104.
- Graham J. Burton, & Jauniaux, E. (2012). *Oxidative stress* (Vol. 25, pp. 287–299). Retrieved from http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=NkKSo9J4tEIC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Obstetrics+%26+Gynaecology&ots=xAsbMu_WS5&sig=xzAVfP05KGluTkIvzbEm4Xp-NP8
- Gris, E. F., Mattivi, F., Ferreira, E. A., Vrhovsek, U., Pedrosa, R. C., & Bordignon-Luiz, M. T. (2011). Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. *Food Chemistry*, 126(1), 213–220.
- Hall, W. L., Vafeiadou, K., Hallund, J., Bügel, S., Koebnick, C., Reimann, M., ... Williams, C. M. (2005). Soy-isoflavone-enriched foods and inflammatory biomarkers of cardiovascular disease risk in postmenopausal women: interactions with genotype and equol production. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(6), 1260–8; quiz 1365–6.

- Haovanalikit, A. R. C., & et al. (2004). Characterization and Quantification of Anthocyanins and Polyphenolics in Blue Honeysuckle (*Lonicera caerulea* L .), (1), 848–852.
- Harbone, B. (1991). Their interactives with Secondary Plants Metabolites. *Academic Press San Diego. CA, 1*, 389–429.
- Hardman, R. (2004). *Cinnamon and Cassia - The genus Cinnamomum* (3rd ed.). Washington, D.C.: CRC Press.
- He, F., Pan, Q., Shi, Y., & Duan, C. (2008). Chemical Synthesis of Proanthocyanidins in Vitro and Their Reactions in Aging Wines. *Molecules, 13*, 3007–3032.
- Holt, R. R., Heiss, C., Kelm, M., & Keen, C. L. (2012). The potential of flavanol and procyanidin intake to influence age-related vascular disease. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics, 31*(3), 290–323.
- Hooper, L., Kroon, P. a, Rimm, E. B., Cohn, J. S., Harvey, I., Le Cornu, K. a, ... Cassidy, A. (2008). Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition, 88*(1), 38–50.
- Huang, & et al. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53*(6), 1841–56.
- Hummasti, S., & Hotamisligil, G. S. (2010). Endoplasmic reticulum stress and inflammation in obesity and diabetes. *Circulation Research, 107*(5), 579–91.
- Hummer, K., Durst, R., Zee, F., Atnip, A., & Giusti, M. M. (2014). Phytochemicals in fruits of Hawaiian wild cranberry relatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 94*(8), 1530–6.
- Hümmer, W., & et al. (2008). Analysis of proanthocyanidins. *Molecular Nutrition & Food Research, 52*(12), 1381–98.

- Ivey, K. L., Lewis, J. R., Prince, R. L., & Hodgson, J. M. (2013). Tea and non-tea flavonol intakes in relation to atherosclerotic vascular disease mortality in older women. *The British Journal of Nutrition*, 110(9), 1648–55.
- Iwalewa, & et al. (2007). Inflammation : the foundation of diseases and disorders . A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions ., 6(25), 2868–2885.
- Jakheta, V., Patel, R., Khatri, P., Pahuja, N., Garg, S., Pandey, A., & Sharma, S. (2010). Cinnamon: A Pharmacological Review. *J.Adv.Sci.Res*, 1(2), 19–23.
- Johnson, A. R., Milner, J. J., & Makowski, L. (2013). The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev*, 249(1), 218–238.
- Kandaswami, C., Kanadaswami, C., Lee, L.-T., Lee, P.-P. H., Hwang, J.-J., Ke, F.-C., ... Lee, M.-T. (2005). The antitumor activities of flavonoids., 19(5), 895–909.
- Katz, D. L., Doughty, K., & Ali, A. (2011). Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(10), 2779–811.
- Khan, N., & Mukhtar, H. (2011). Tea polyphenols for health promotion. *Life Sci*, 81(7), 519–533.
- Khansari, N., & et al. (2009). Chronic inflammation and oxidative stress as a major cause of age-related diseases and cancer. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 3(1), 73–80.
- Khoo, N. K. H., & et al. (2010). Dietary Flavonoid Quercetin Stimulates Vasorelaxation in Aortic Vessels. *Free Radic Biol Med*, 49(3), 339–347.
- Knab, L. M., Grippo, P. J., & Bentrem, D. J. (2014). Involvement of eicosanoids in the pathogenesis of pancreatic cancer: The roles of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, 20(31), 10729–10739.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 162750.

- Liao, B., Hsieh, C., Liu, Y., Tzeng, T., Sun, Y., & Wung, B. (2008). Cinnamaldehyde inhibits the tumor necrosis factor- α -induced expression of cell adhesion molecules in endothelial cells by suppressing NF- κ B activation : Effects upon I κ B and Nrf2, 229, 161–171.
- Liu, Y., Feng, S., Song, L., He, G., Chen, M., & Huang, D. (2013). Secondary Metabolites in Durian Seeds: Oligomeric Proanthocyanidins. *Molecules*, 18, 14172–14185.
- Määttä-Riihinen, K. R., & et al. (2005). Catechins and procyanidins in berries of vaccinium species and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8485–91.
- Mariani, F., Sena, P., & Roncucci, L. (2014). Inflammatory pathways in the early steps of colorectal cancer development. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(29), 9716–9731.
- Martins, Z. (2013). *Atividade anti-inflamatória dos flavonóides*.
- Mateos-Martín, M. L., & et al. (2012). New identification of proanthocyanidins in cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* L.) using MALDI-TOF/TOF mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402(3), 1327–36.
- Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(12), 9252–87.
- Moretoni, C. B. (2008). Avaliação Fitoquímica e das Atividades Antioxidante, Citotóxica e Hipoglicemiante dos Frutos de *Cucumis anguria* L. (Cucurbitaceae).
- Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, 49(4), 503–15.
- Niki, & et al. (1995). Interaction among vitamin C, vitamin E, and Beta-carotene. *Am J Clin Nutr*, 62.

- O'Leary, C. B., & Hackney, A. C. (2014). Acute and chronic effects of resistance exercise on the testosterone and cortisol responses in obese males: A systematic review. *Physiological Research Pre-Press Article*, 1–28.
- Olajuyigbe, O. O., & Afolayan, A. J. (2011). Phenolic content and antioxidant property of the bark extracts of *Ziziphus mucronata* Willd. subsp. *mucronata* Willd. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 130.
- Pan, M., & et al. (2010). Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food & Function*, 1(1), 15–31.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–8.
- Pang, Y., Abeysinghe, I. S. B., He, J., He, X., Huhman, D., Mewan, K. M., ... Dixon, R. a. (2013). Functional characterization of proanthocyanidin pathway enzymes from tea and their application for metabolic engineering. *Plant Physiology*, 161(3), 1103–16.
- Pashkow, F. J. (2011). Oxidative Stress and Inflammation in Heart Disease: Do Antioxidants Have a Role in Treatment and / or Prevention? *International Journal of Inflammation*, 2011.
- Pires, A. P. M. (2010). Composição química e actividade antioxidante de folhas de diferentes castas de videira.
- Pons, Z., Guerrero, L., Margalef, M., Arola, L., Arola-Arnal, A., & Muguerza, B. (2014). Effect of low molecular grape seed proanthocyanidins on blood pressure and lipid homeostasis in cafeteria diet-fed rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 70(2), 629–37.
- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219–36.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology & Medicine*, 49(11), 1603–16.

- Rispail, N., Morris, P., & Webb, K. J. (2005). Phenolic Compounds: Extraction and analysis. *Lotus Japonicus Handbook*, 349–354.
- Robbins, S., & Cotran, R. (2008). *Patologia: Bases patológicas das Doenças* (8th ed.).
- Rösch, D., & et al. (2004). Antioxidant oligomeric proanthocyanidins from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22), 6712–8.
- Sandhar, & et al. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids, 1(1).
- Sari, P., & et al. (2012). Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. *Food Chemistry*, 132(4), 1908–1914.
- Serra, A. T., Rocha, J., Sepodes, B., Matias, A. a, Feliciano, R. P., de Carvalho, A., ... Figueira, M. E. (2012). Evaluation of cardiovascular protective effect of different apple varieties - Correlation of response with composition. *Food Chemistry*, 135(4), 2378–86.
- Sharma, R., & Vinayak, M. (2011a). α - Tocopherol attenuates NF- κ B activation and proinflammatory cytokine IL-6 secretion in cancer bearing mice.
- Sharma, R., & Vinayak, M. (2011b). α -Tocopherol attenuates NF- κ B activation and pro-inflammatory cytokine IL-6 secretion in cancer-bearing mice, 31, 421–428.
- Sismanopoulos, N., Delivanis, D., Mavrommati, D., Hatziagelaki, E., Conti, P., & Theoharides, T. C. (2013). Do mast cells link obesity and asthma? *Allergy*, 68(1), 8–15.
- Soares, S. E. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, 15(1), 71–81.
- Soares, S., & et al. (2012). Effect of condensed tannins addition on the astringency of red wines. *Chemical Senses*, 37(2), 191–8.

- Soleas, G. J., & et al. (1997). Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 11(5), 287–313.
- Starr, F., & et al. (2003). *Cinnamomum burmannii*, (Skolmen 1960).
- Stoner, & et al. (2008). Laboratory and clinical studies of cancer chemoprevention by antioxidants in berries. *Carcinogenesis*, 29(9), 1665–74.
- Sun, B., & Spranger, M. I. (2001). Quantification of Catechins and Proanthocyanidins in Several Portuguese Grapevine Varieties and Red Wines. *Ciência Téc. Vitiv.*, 16(1), 23–34.
- Suzuki, J., Ogawa, M., Sagesaka, Y. M., & Isobe, M. (2006). Tea catechins attenuate ventricular remodeling and graft arterial diseases in murine cardiac allografts. *Cardiovascular Research*, 69(1), 272–9.
- Tapas, & et al. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals : A Review, 7(September), 1089–1099.
- Tateya, S., Kim, F., & Tamori, Y. (2013). Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Frontiers in Endocrinology*, 4(August), 93.
- Terra, X., Pallarés, V., Ardèvol, A., Bladé, C., Fernández-Larrea, J., Pujadas, G., ... Blay, M. (2011). Modulatory effect of grape-seed procyanidins on local and systemic inflammation in diet-induced obesity rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(4), 380–7.
- Thomasset, S., & et al. (2009). Do anthocyanins and anthocyanidins, cancer chemopreventive pigments in the diet, merit development as potential drugs? *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 64(1), 201–211.
- Tulio, A. Z., Jablonski, J. E., Jackson, L. S., Chang, C., Edirisinghe, I., & Burton-Freeman, B. (2014). Phenolic composition, antioxidant properties, and endothelial cell function of red and white cranberry fruits. *Food Chemistry*, 157, 540–52.
- Ulbricht, C., Seamon, E., Windsor, R., Ambruster, N., & Bryan, K. (2011). An evidence-based systematic review of Cinnamon (*Cinnamomum* spp.) by the

- Natural Standard Research Collaboration. *Journal of Dietary Supplements*, 8(4), 378–454.
- Valko, M., & et al. (2006a). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40.
- Valko, M., & et al. (2006b). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40. doi:10.1016/j.cbi.2005.12.009
- Valko, M., & et al. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.
- Verdu, C. F., Childebrand, N., Marnet, N., & Dupuis, F. (2013). Polyphenol variability in the fruits and juices of a cider apple progeny. *J Sci Food Agric*, (February).
- Wang, L.-S., & Stoner, G. D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention, 269(2), 281–290.
- Wang, Ouyang, Y. Y., Liu, J., & Zhao, G. (2014). Flavonoid intake and risk of CVD: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *The British Journal of Nutrition*, 111(1), 1–11.
- Zu, X., & et al. (2010). Anthocyanins extracted from Chinese blueberry (*Vaccinium uliginosum* L.) and its anticancer effects on DLD-1 and COLO205 cells. *Chin Med J*, 123(19), 2714–2719.